FACULTÉ DE MÉDECINE DE STRASBOURG

Année 1968 N° 24

THÈSE

PRÉSENTÉE POUR LE DOCTORAT EN MÉDECINE

PAR

LE BERRE Georges

Né le 5 février 1929 à Gonfreville l'Orcher (Seine-Maritime)

Intérêt et applications de la mélano-réaction de Henry en biologie médicale

---

Président : Monsieur J. CALLOT, Professeur

FACULTÉ DE MÉDECINE DE STRASBOURG

Année 1968 N° 24

THÈSE

PRÉSENTÉE POUR LE DOCTORAT EN MÉDECINE

PAR

LE BERRE Georges

Né le 5 février 1929 à Gonfreville l'Orcher (Seine-Maritime)

Intérêt et applications de la mélano-réaction de Henry en biologie médicale

---

Président : Monsieur J. CALLOT, Professeur

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41552712_0020

FACULTE DE MEDECINE DE STRASBOURG

Doyen	MM. CLAVERT Jean
Doyens honoraires	CALLOT Jacques
	FONTAINE René
Assesseur	CALLOT Jacques

PROFESSEURS TITULAIRES

MM.	
ARON Claude	Histologie
BASSET André	Clinique Dermatologique
BUCK Paul	Chirurgie Infantile
CALLOT Jacques	Parasitologie
CHAMBRON Jacques	Physique Biologique
CHAUMONT André	Médecine Légale et Sociale
CLAVERT Jean	Embryologie et Morphologie expérimentale
FONTAINE René	Clinique Chirurgicale A
GANDAR Robert	Clinique Gynécologique et Obstétricale 1
GREINER Georges	Clinique Oto-Rhino-Laryngologique
GROS Charles	Electro-Radiologie
JUNG Adolphe	Chaire de Pathologie et Clinique Séméiologique Chirurgicales
KAMMERER Théophile	Clinique Psychiatrique
KAYSER Charles	Physiologie
KLEIN Marc	Biologie Médicale
KORITKE Jean-Georges	Anatomie Normale
LE GAL Yvon	Anatomie Pathologique
MANDEL Paul	Chimie Biologique
METZ Bernard	Physiologie Appliquée
METZGER Henri	Thérapeutique
MINCK Raymond	Chaire de Bactériologie, Virologie et Immunologie Générale
MULLER Pierre	Clinique Gynécologique et Obstétricale 2
NORDMANN Jean	Clinique Ophtalmologique
OUDET Pierre	Pneumo-Phtisiologie
SACREZ Robert	Pédiatrie et Puériculture
SCHWARTZ Jean	Pharmacologie et Médecine expérimentale
STAHL Jules	Clinique Médicale B
STEPHAN Frédéric	Pathologie expérimentale
THIEBAUT François	Clinique Neurologie
VEDRINE Jean	Stomatologie

WAITZ Robert	Hématologie
WARTER Julien	Clinique Médicale A
WEISS Alfred	Clinique Chirurgicale B
N...	Hydrologie
N...	Hygiène

PROFESSEURS A TITRE PERSONNEL

MM.

BRONNER Albert	Clinique Ophtalmologique
KARLI Pierre	Biologie Médicale
MARESCAUX Jean	Histologie
MARX Charles	Physiologie
MAYER Georges	Hématologie
ROHMER Francis	Clinique Neurologique
SEROR Joseph	Pathologie Chirurgicale
WINCKLER Georges	Anatomie

PROFESSEURS SANS CHAIRE

MM.

BATZENSCHLAGER André	Anatomie Pathologique
BOLLACK Claude	Clinique Chirurgicale A
BURGHARD Guy	Pneumo-Phtisiologie
DORNER Marc	Clinique Médicale B
KIRN André	Hygiène
LAVILLAUREIX Jean	Bactériologie
MANTZ Jean-Marie	Clinique Médicale A
MARCOUX François	Médecine Légale
WITZ Jean-Paul	Clinique Chirurgicale B

MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

MM.

ADLOFF Michel	Clinique Chirurgicale B'
APROSIO Norbert	Anatomie
ASCH Léopold	Clinique Médicale A
BLOCH Roger	Pharmacologie
BOCKEL René	Clinique Médicale B
BRINI Alfred	Clinique Ophtalmologique
CHAMBON Pierre	Chimie Biologique
EBTINGER René	Clinique Psychiatrique
FINCKER Louis	Clinique Médicale B
GAUTHIER-LAFAYE Pierre	Département d'Anesthésiologie
GRENIER Jacques	Clinique Chirurgicale B
HERAN Jacques	Pathologie expérimentale
ISCH François	Clinique Neurologique
ISRAEL Lucien	Clinique Psychiatrique
JAHN Henri	Clinique Médicale B
JUIF Jean	Pédiatrie et Puériculture
KEILING Roger	Electro-Radiologie
KELLER Bernard	Gynécologie et Obstétrique 2 (Maternité)
KEMPF François	Electro-Radiologie (Clinique Médicale A)
KEMPF Ivan	Pathologie Chirurgicale (Centre de Traumatologie)
KIENY René	Clinique Chirurgicale A
KREMER Michel	Parasitologie
LANG Gabriel	Hôpital Orthopédique Stéphanie
LEVY Jean-Marc	Pédiatrie et Puériculture
MALEVILLE Jean	Clinique Dermatologique
MAURER Charles	Clinique Médicale B
Mme MAYER Simone	Hématologie
PHILIPPE Emile	Anatomie Pathologique
ROEGEL Emile	Pneumo-Phtisiologie
ROHMER Albert	Institut de Puériculture
SACREZ André	Clinique Médicale A
SCHAFF Georges	Physiologie
SCHNEEGANS Ernest	Pédiatrie et Puériculture
SCHVINGT Eugène	Clinique Chirurgicale B
SIBILLY Abel	Clinique Chirurgicale A
VERGNES René	Physique Biologique
VINCENDON Guy	Chimie Biologique
VOEGTLIN Raymond	Clinique Médicale A
WACKENHEIM Auguste	Electro-Radiologie (Clinique Neurologique)
WALTER Jean-Pierre	Electro-Radiologie

WARTER Pierre	Electro-Radiologie (Clinique Chirurgicale A)
WEILL Jean-Pierre	Clinique Médicale A
WILLARD Daniel	Pédiatrie et Puériculture

PROFESSEUR ASSOCIE

M. PHILIPPIDES Demètre	Clinique Neurologique

AGREGES

MM. CHAMPY Maxime	Stomatologie
FRANK Robert	Stomatologie
KLOTZ Gilbert	C.R.L.
MEHL Jacques	Médecine Légale

AGREGES LIBRES

MM. BEYER Paul	MM. KUHLMANN Daniel
FORSTER Emile	KUNTZMANN Jean
HOLLENDER Louis	MULLER Jean-Nicolas

DIRECTEUR DE L'INSTITUT DENTAIRE

M. le Professeur VEDRINE Jean

CHARGES D'UN COURS D'ENSEIGNEMENT COMPLEMENTAIRE

MM. MOISE, SINGER, TISSIER.

SECRETAIRE PRINCIPAL DE LA FACULTE DE MEDECINE

M. Gilbert KIEHL

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. ARON Max	MM. ROHMER Paul
BURGER Paul	SCHMID Frédéric
BENOIT Jacques	THIODET Jean
ROEDERER Jean	VINTEMBERGER Pierre

La Faculté a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle entend ni les approuver, ni les improuver.

SERMENT D'HIPPOCRATE

En présence des maîtres de cette école, de mes chers condisciples, je promets et je jure au nom de l'Etre suprême d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la médecine. Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail.

Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe.

Ma langue taira les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas à corrompre les moeurs, ni à favoriser les crimes.

Respectueux et reconnaissant envers mes maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis resté fidèle à mes promesses. Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

A la mémoire de ma mère

AUX MAITRES QUI NOUS ONT FAIT L'HONNEUR
DE CONSTITUER NOTRE JURY DE THESE

A NOTRE PRESIDENT DE THESE,
MONSIEUR LE PROFESSEUR J. CALLOT,
Professeur de Parasitologie et de Médecine tropicale

pour l'honneur qu'il nous a fait d'accepter la présidence de cette thèse
et la constante bienveillance avec laquelle il nous a accueilli
qu'il veuille bien recevoir ici l'hommage de notre reconnaissance et
de notre profond respect

A MONSIEUR LE PROFESSEUR B. METZ
Professeur de Physiologie appliquée

pour l'intérêt qu'il a porté à cette étude et l'honneur qu'il nous a fait
en acceptant de la juger
nous lui exprimons ici nos plus vifs remerciements et respectueux
hommages

A MONSIEUR LE PROFESSEUR A. BASSET
Professeur de Dermatologie

pour l'accueil qu'il a réservé à notre travail
qu'il soit assuré de notre reconnaissance et de nos sentiments
dévoués

A MONSIEUR LE PROFESSEUR J. LAVILLAUREIX
de l'Institut de Bactériologie

pour l'intérêt bienveillant qu'il a bien voulu nous témoigner
qu'il nous permette de lui exprimer ici notre profonde reconnaissance.

En hommage au docteur Fr. Trensz

INTRODUCTION

La réaction de floculation appliquée au diagnostic du paludisme, publiée par A.F.X. Henry (146) en 1927, éveilla un vif intérêt : une réaction sérologique était souhaitable, l'hématozoaire étant souvent absent du sang périphérique aux phases de la maladie où les symptômes cliniques ne permettent pas un diagnostic sûr.

Les premières publications concernant cette réaction, faites entre 1927 et 1930, étaient très encourageantes, soulignant surtout sa sensibilité. Pourtant elle tomba assez vite dans l'oubli, demeurant un examen complémentaire utile en certaines circonstances, mais ne pouvant remplacer la recherche de l'hématozoaire qui seule, maintenant encore, donne un diagnostic de certitude.

De nombreux auteurs se sont attachés à l'étude de la réaction de Henry, souhaitant la perfectionner. On compte plus de deux cents travaux ayant porté sur sa valeur pratique et son mécanisme. Pourtant elle n'a pas pris place parmi les analyses de routine des laboratoires et ce pour plusieurs raisons :

- malgré les efforts de perfectionnement de son auteur, la technique de Henry est restée compliquée, alors que les techniques de laboratoire en général tendent à se simplifier.
- le réactif original du Dr. Henry a été peu diffusé ; pour en disposer il fallait le demander à l'auteur ou le fabriquer soi-même
- il n'existait pas de microtechnique simple et pratique permettant une étude épidémiologique approfondie
- si tous les auteurs s'accordent à reconnaître à la réaction une sensibilité satisfaisante, beaucoup lui contestent une spécificité clinique absolue ; elle est positive dans de nombreuses affections autres que le paludisme
- enfin les études sur le déroulement de la réaction ont incité certains auteurs à la remplacer par une réaction à l'eau distillée, en adaptant la réaction de Klaussner (176) au diagnostic du paludisme ; la réaction de Henry s'en est trouvée discréditée.

BUT DE L'ETUDE

Les nombreuses recherches concernant la marche et la valeur pratique de la réaction de Henry étant éparpillées dans la littérature, nous avons fait d'abord une mise au point du problème ; l'étude d'une grande partie des publications devait nous permettre de donner un historique aussi complet que possible et une synthèse de l'ensemble des travaux. Puis nous nous sommes attaché au problème de l'interprétation physiopathologique de la réaction. La sensibilité de cette dernière a été très souvent étudiée, soit lors de l'évolution du paludisme provoqué, véritable expérimentation sur l'homme, soit aux différents stades du paludisme endémique. Sous ce rapport, la valeur de la réaction est bien connue. Par contre le reproche majeur reste son manque de spécificité ; de ce fait nous avons étudié surtout les cas positifs en dehors du paludisme, et nous pensons pouvoir apporter une documentation assez vaste, ayant eu à notre disposition de nombreux sérums du Centre de Transfusion Sanguine de Strasbourg, et du Service d'analyses médicales du docteur Trensz. Nous avons aussi éprouvé la réaction sur plusieurs sérums de sujets paludéens, après avoir mis au point une technique simple de semi-microréaction.

HISTORIQUE

Le seul examen des frottis sanguins dans le paludisme a une valeur limitée (Bruce-Chwatt 30).

C'est pourquoi il est souhaitable de pouvoir déceler chez le paludéen des anticorps spécifiques anti-parasitaires. Les recherches sérologiques en ce sens ont commencé à l'époque où est née l'immunologie, c'est-à-dire à la fin du dix-neuvième siècle. Il n'est pas une réaction sérologique dont l'application au paludisme n'ait été tentée, et cela avec des fortunes diverses.

I. - Les diverses réactions sérologiques du paludisme

1) Réactions de fixation du complément

Les réactions de fixation du complément, parmi les méthodes de sérodiagnostic proposées, ont tout spécialement retenu l'attention des chercheurs ; c'est en utilisant cette méthode qu'ils enregistrèrent le plus de résultats encourageants. De Blasi (83) en 1907, Mircoli (232) en 1908, Gasbarrini (126) en 1914, Thomson (309) en 1919, Henry en 1926, utilisaient comme antigène des hématies parasitées, Kingsbury (175) le coeur de malades décédés du paludisme. Horowitz-Wlassowa (167) en 1924 a employé des fragments de placenta provenant d'une malade paludéenne et a constaté l'apparition d'anticorps quinze jours après le début de la maladie ; ces anticorps pouvaient persister dans l'organisme pendant plusieurs années. Savtchenko et Baronoff (in 262) en 1926 utilisaient comme antigène des extraits alcooliques de foie d'animaux impaludés. L'intestin de moustique parasité a servi d'antigène à Manson-Bahr (218) en 1927. Pourtant toutes ces techniques ne connurent pas de succès, leurs auteurs eux-mêmes en reconnaissant souvent les inconvénients. Ainsi Kingsbury trouvait sa réaction nettement positive dans la moitié des cas seulement, et d'une application pratique difficile. Pour préparer 1 cc d'antigène, Manson-Bahr devait utiliser plus de cent anophèles, et de nombreuses défaillances ou fausses positivités affaiblissaient l'intérêt que cette réaction pouvait présenter.

De Blasi obtint des résultats aussi peu satisfaisants.

En 1936, Mayer et Heidelberger (226) préparèrent des antigènes à partir d'hématozoaires de P. vivax, et à la suite de leurs travaux la réaction de fixation du complément tendra à être considérée comme spécifique d'espèce ; car ces auteurs n'ont pas obtenu de réactions croisées envers P. vivax et P. falciparum.

Ce n'est qu'en 1938 que des auteurs américains ont expérimenté une réaction de déviation du complément qui a connu quelque succès. Coggeshall et Eaton (62), Eaton et Coggeshall (105), en utilisant comme antigène du sang de singe infecté par P. knowlesi, ont conclu que les anticorps ainsi mis en évidence étaient des anticorps spécifiques de groupe et non de souche, et ne protégeaient pas l'organisme contre une nouvelle infection. En 1940, Dulaney et Stratman-Thomas (99), Dulaney et coll. (101) ont commencé une série de travaux en utilisant le même antigène ; ils ont précisé que l'apparition des anticorps fixant le complément était postérieure à l'établissement de la parasitémie, et que la positivité de la réaction persistait rarement plus d'un mois après la disparition des parasites. Dulaney et Morrisson (102), en 1944, ont amélioré la puissance du même antigène en utilisant un tampon véronal, et Dulaney et Watson (103), un an plus tard, ont mis en évidence des anticorps fixant le complément au cours de rechutes à P. vivax, alors qu'aucun hématozoaire n'était visible sur les frottis sanguins.

En 1950 Sutliff et coll. (297) ont expérimenté cette méthode sur le sérum de 174 sujets impaludés ; ils ont observé 89 p. 100 de réactions positives chez les paludéens porteurs de parasites, 21 p. 100 de réactions positives chez les malades ayant présenté des accès palustres depuis moins d'un an, mais sans hématozoaires dans le sang ; enfin la réaction a toujours été négative chez les impaludés dont le dernier accès remontait à plus d'un an, et chez des rapatriés sans antécédents palustres. Ces auteurs ont admis 82 p. 100 comme taux moyen de positivité chez les paludéens, et ont reconnu chez les sujets non paludéens huit réactions faussement positives sur cent ; la valeur spécifique de la réaction s'en est trouvée diminuée. Rein et coll. (254)

ont utilisé comme antigène un extrait tamponné aux phosphates alcalins de P. knowlesi, préparé suivant la méthode de Dulaney ; la réaction devenait positive cinq à sept jours après l'apparition de parasites dans le sang, et cette positivité ne précédait jamais la parasitémie, sauf bien entendu dans les cas de rechute, lorsque les réactions positives dues aux précédents accès n'avaient pas eu le temps de s'éteindre. La positivité de la réaction a duré plus longtemps que la parasitémie ; celle-ci a disparu quatre à cinq jours après le début du traitement. D'après la plupart des chercheurs la sensibilité des méthodes utilisant P. knowlesi a atteint un pourcentage élevé (82 à 86 p. 100) ; mais on n'a observé ces résultats que dans le paludisme aigu, la réaction restant négative dans le paludisme statique.

Lippincott et coll. (201) en 1945, ont repris les essais de Kligler et Yoeli (177) en 1941, avec un antigène préparé à partir d'hématies lyophilisées de poulets parasités par P. gallinaceum ; la méthode n'a permis de déceler que 30 à 40 p. 100 de cas positifs. Pourtant, en 1948, Harris et Reidel (139) ont rapporté que la sensibilité de la réaction était plus forte avec l'antigène P. knowlesi. Quant à Davis (82) qui, la même année, travaillait avec un antigène préparé à partir de P. lophurae, Plasmodium des canards, sur des sérums de singes infectés par P. knowlesi, il a admis une réaction de groupe.

En 1952, Vargues et Fabiani (341) ont mis en évidence la présence d'anticorps dans le sang de rats infectés par P. berghei en utilisant un antigène constitué par un extrait de foie ayant subi un début d'autolyse en glacière pendant cinq jours, et prélevé chez des rats fortement parasités.

En 1953, Pautrizel et Nguyen Vinh Nien (244) ont obtenu des résultats similaires, chez le même animal, en utilisant cette fois un antigène préparé à partir d'hématies parasitées. Celles-ci étaient séparées par centrifugation, fractionnées en solution polyvinylpirolidone, lysées, soumises à une digestion trypsique pour éliminer le stroma, et à des congélations et décongélations successives jusqu'à l'obtention d'un liquide brun clair qui constituait l'antigène.

2) Réactions de précipitation

Le précurseur des réactions de précipitation dans les affections à Plasmodium fut Pewny (245) qui, en 1918, rapporta qu'un anneau de précipité se formait quand il disposait des érythrocytes parasités au-dessus d'un sérum provenant de sujets paludéens ; il constatait d'ailleurs certaines fausses réactions positives. Par cette méthode, Ziemann (367) en 1924, put établir des différences entre des sérums de sujets européens et africains.

Taliaferro et coll. (298) en 1927, Taliaferro et Taliaferro (299) en 1928, ont effectué des recherches importantes sur des tests de précipitation du paludisme en Amérique Centrale, en utilisant comme antigène la fraction insoluble à l'éther d'un extrait de placenta de femme paludéenne ; ils conclurent que la réaction était spécifique de groupe. Les résultats des travaux ultérieurs de Taliaferro (300) en 1929 furent moins probants.

En 1931 Row (261) a repris les anciens essais infructueux de Bass et Johns (14) et de Thomson (309) et a tenté de préparer un antigène à partir d'hématies parasitées maintenues en survie in vitro pendant quelques jours. Il a découvert une réaction de précipitation croisée entre P. vivax et P. falciparum ; les meilleurs résultats ont été obtenus quand les sérums furent prélevés durant l'apyrexie, après un accès fébrile, ou quand les parasites avaient disparu de la circulation périphérique.

Torrey et Kahn (315) en 1949 ont constaté la présence de précipitines dans le sérum de canard infecté par P. lophurae ; ces précipitines persisteraient deux semaines après la guérison. Mais la spécificité de la réaction de précipitation est restée douteuse, et sa sensibilité faible.

3) Pouvoir schizonticide

Carnot (32) en 1917 a reconnu au sérum de paludéen des propriétés schizonticides n'apparaissant qu'à la fin de l'accès. De même Schilling (272) en 1943, a constaté que du sérum de paludéen prélevé douze heures après l'accès puis ajouté à du sang fraîchement parasité lui enlevait son

pouvoir infectant ; ce dernier, injecté pour impaludation thérapeutique, ne déclenchait plus d'infection palustre.

4) Intradermoréaction

Dans l'étude du sérodiagnostic du paludisme, quelques lignes doivent être consacrées à l'intradermoréaction. C'est en 1930 que Herrmann et Lifschitz (in 347) publièrent une technique d'intradermoréaction par extraits d'hématies parasitées, mais sans résultats satisfaisants. En 1932, Rocchi (256) proposa une nouvelle technique basée sur l'hypothèse formulée par Henry (146) : l'organisme des paludéens élaborerait des anticorps contre les pigments (hémozoïne et hémosidérine) qui s'accumulent dans les viscères au cours de la maladie. Pour déceler la présence de ces anticorps, Rocchi a injecté l'hémozoïne, par voie intradermique, à des sujets paludéens et non paludéens : 82 p. 100 des témoins réagissaient à l'hémozoïne par une plaque érythémateuse plus ou moins étendue, nettement visible, tandis que 22 p. 100 seulement des paludéens présentaient cette réaction. L'auteur a conclu que l'organisme des paludéens est doué d'un pouvoir neutralisant à l'égard de l'action de l'hémozoïne, le mécanisme de cette intradermoréaction paraissant être le même que celui de la réaction de Schick. La réaction de Rocchi n'entra pas dans la pratique courante.

Trensz (322), en 1934, remplaça l'hémozoïne par un réactif plus facile à obtenir, la mélanine choroïdienne solubilisée : les résultats qu'il obtint étaient superposables à ceux de Rocchi.

5) Réactions d'agglutination

De nombreux auteurs ont recherché des anticorps analogues à ceux des maladies bactériennes. C'est Celli (35) qui en 1899 découvrit le premier les propriétés agglutinantes du sérum de paludéen sur l'hématozoaire. Un an plus tard Lo Monaco et Panichi (204) ont mis en évidence les propriétés agglutinantes du sérum de paludéens à l'égard des hématies d'autres paludéens ou de sujets sains. En 1908, Cropper (79) a dénombré dans le sang

d'un homme mourant d'une infection à P. falciparum des agglomérats de trois à vingt et une hématies parasitées. De telles agglutinations ont aussi été signalées par Malamos (216) en 1937 sur des hématies parasitées par P. knowlesi.

En 1938, Eaton (104) a mis en évidence la présence d'anticorps agglutinants dans le sérum de singes Rhésus infectés par P. knowlesi. Ceci a été confirmé par Somogyi (292), Singh et Singh (289), Ray et coll. (252). Les agglutinines apparaissaient quinze à quarante-cinq jours après l'infection, augmentaient au fur et à mesure de son développement ainsi qu'en cas de surinfection. Elles étaient spécifiques d'espèce et ne jouaient qu'envers des formes parasitaires assez grandes, extra ou intra-cellulaires. Des agglutinines homologues ont également été mises en évidence envers les sporozoïtes des Plasmodium humains et aviaires par Mulligan et coll. (236) en 1940, par Russel et coll. (263) en 1941. Knisely et coll. (178), la même année, découvrirent autour des hématies parasitées la formation d'une couche de substance semblable à la fibrine, qui les durcissait et les rendait aptes à être phagocytées. Goodner (134), puis Dulaney et House (100) ont repris les travaux d'Eaton et ont tenté de mettre au point une réaction d'agglutination sur un support inerte constitué par des particules de collodion ; mais de nombreuses fausses réactions positives ont conduit à l'abandon de cette méthode.

Les recherches consacrées à l'immunité contre le paludisme ont été gênées par les échecs des techniques sérologiques standard telles que l'agglutination, la précipitation et, jusqu'à un certain degré, la fixation du complément. Les nombreuses techniques immunologiques que représentent l'hémagglutination, l'immunoélectrophorèse, et l'immunofluorescence se sont montrées plus utiles dans l'étude de l'immunité en cause.

6) Réactions d'hémagglutination

L'épreuve d'hémagglutination avec des hématies traitées à l'acide tannique s'est révélée remarquablement sensible ; ne nécessitant que de petites quantités d'anticorps et d'antigène, elle a d'abord été appliquée à la recherche des anticorps élaborés par l'organisme contre un certain nombre de parasites tels que Toxoplasma (Lund et Jacobs 205) et Schistosoma (Kagan 170). Puis Desowitz et Stein (88) en 1962, Stein et Desowitz (294) en 1964, ont développé une méthode d'agglutination des hématies de mouton, traitées à l'acide tannique, stabilisées par le formol et sensibilisées par des antigènes de divers Plasmodium, P. berghei, P. cynomolgi et P. vivax. Cette méthode s'est révélée extrêmement sensible, les auteurs ayant enregistré des titres allant jusqu'à 1/25.600 avec l'antigène homologue. Quelques fausses réactions positives sont apparues, mais à des taux beaucoup plus bas.

En 1964 Bray (26) a utilisé la technique de Stein et Desowitz pour détecter des anticorps spécifiques des Plasmodium des rongeurs : P. berghei et P. vinckei. Ici aussi des sérums d'animaux sains ont donné des réponses positives, mais à des taux peu élevés. La réaction d'hémagglutination paraît être une technique de valeur pour le diagnostic sérologique des affections à Plasmodium ; pourtant le problème réside, comme d'ailleurs pour les autres réactions,dans l'obtention d'antigènes suffisamment purifiés et spécifiques.

7) Techniques d'immunoélectrophorèse

Elles sont l'objet de recherches très récentes. Spira et Zuckerman (293), Zuckerman et Spira (371, 372), Banki et Bucci (11), Diggs (92, 93), ont montré qu'une précipitation immunologique peut être obtenue en utilisant des sérums d'animaux artificiellement immunisés avec des préparations de Plasmodium ; les résultats obtenus à partir de sérums d'hommes ou d'animaux convalescents de paludisme ont montré des propriétés de

précipitation plus faibles. Ce sont sans doute des techniques d'avenir en ce sens qu'elles font apparaître des différences dans la composition antigénique des divers Plasmodium et permettront peut-être de déceler les fractions actives et spécifiques de chaque antigène. Sherman (283) en 1964, a pu découvrir des différences notables entre les sérums de poulets hyperimmunisés expérimentalement et ceux d'animaux normalement infestés ; cette étude semble avoir confirmé que le pigment des hématozoaires n'aurait pas de pouvoir antigénique. Zuckerman (370), la même année, a montré l'existence d'antigènes et d'haptène dans des extraits plasmodiaux purs d'hématies.

8) Techniques d'immunofluorescence

Ces techniques sont encore au stade de la recherche, mais elles ont déjà donné des résultats satisfaisants, et offrent certainement des perspectives intéressantes. Brooke et coll. (27) furent les premiers à avoir utilisé cette technique en 1958. En 1961, Ingram et coll. (168, 169) ont démontré la spécificité de la réaction sur P. cynomolgi. Par la suite, de nombreux auteurs ont publié les résultats de leurs expériences : Tobie et Coatney (311), Tobie et coll. (312), Voller et Bray (354, 355), Bray (25), Kuvin et coll. (186), Voller (349, 350, 351, 352), Kuvin et Voller (187), Tobie (313), Voller et Taffs (356), Collins et Jeffery (65), Ciuca et coll. (58), Corradetti et coll. (74), Kreier et Ristic (182), Collins et coll. (66, 67, 68, 69), Mac Gregor et coll. (212), Garin et coll. (124), Coudert et coll. (76, 77, 78). Plusieurs auteurs ont pu étudier la courbe d'apparition des anticorps spécifiques au cours d'impaludations provoquées, ou les réponses immunologiques lors des infections endémiques, et confirmer l'existence de réactions croisées entre certains Plasmodium.

Saliou (264), en 1964, a consacré sa thèse de médecine à l'étude de techniques d'immunofluorescence dans le diagnostic du paludisme humain ; il a fait le point des recherches à ce sujet, et a conclu à la très

grande supériorité de la technique de Coons.

Pourtant, Rey et coll. (255) déclaraient récemment, lors des "Premières Journées médicales d'Abidjan", que dans les cas de paludisme sévère, la sérologie peut être soit négative, soit positive, avec des titres faibles ou avec des titres élevés, et qu'en pratique l'immunofluorescence, appliquée sur le plan individuel, en zone d'endémie, ne paraît guère pouvoir apporter de contribution valable au diagnostic ; son emploi serait limité à l'obtention de renseignements épidémiologiques à partir d'enquêtes systématiques.

II.- La place de la réaction de Henry parmi les autres réactions sérologiques

1) Principe, technique et résultats

Henry donna une impulsion nouvelle à la sérologie palustre en basant son hypothèse de travail sur des principes différents. Après avoir recherché en vain divers antigènes, Henry (146) mit à profit les constatations de Kelsch et Kiener (174). Ceux-ci avaient attribué les lésions histopathologiques du paludisme à l'accumulation dans l'organisme de deux pigments dérivés de l'hémoglobine : le pigment ocre, ferrugineux, apparenté à l'albuminate de fer, et le pigment paludéen, qu'ils appelaient aussi hémozoïne, apparenté à l'hématine. Henry pensa que ces pigments avaient des propriétés antigéniques, et leur attribua le pouvoir de déterminer la formation d'anticorps spécifiques ; ce sont ces derniers qu'il voulut mettre en évidence.

L'hémozoïne palustre étant d'extraction difficile, Henry lui substitua la mélanine choroïdienne de l'oeil de boeuf, considérant que son groupement aminé peut avoir quelque parenté chimique avec l'hémozoïne naturelle ; il remplaça par ailleurs le pigment ferrugineux par l'albuminate de fer. Il mit ainsi au point une ferrofloculation (par l'albuminate de fer), et une mélanofloculation (mélanine choroïdienne).

a) technique originale de Henry (in Fiessinger 120)

La mélanine s'extrait de la choroïde des yeux de boeuf ; après avoir broyé les membranes dans l'eau distillée, on filtre et ajoute du glycérophosphate de fer (0,20 ml d'une solution à 1/500 pour 10 ml de mélanine), du phénol (20 ml d'une solution à 5 p. 100 par litre) et du formol (1 ml par litre de mélanine). On compare la mélanine ainsi obtenue à un échantillon déjà en service, sur des sérums de sujets normaux et des sérums de paludéens, en se servant de dilutions à 1/12, 1/12,5 etc... jusqu'à 1/15, et on choisit la dilution qui, au photomètre, donne une densité optique de 47 à 50 degrés Vernes et se sera montrée la plus sensible et la plus spécifique, dans la limite d'opacité indiquée ci-dessus.

La mélanine est répartie en petits récipients que l'on chauffe à 52°C, six heures par jour pendant cinq jours de suite. Cette stabilité obtenue par le chauffage permet de conserver la mélanine sans que son titre change. La dilution choisie, ou titre, sera le plus souvent 1/13 ou 1/15.

Au moment de faire la réaction, on introduit successivement dans un tube 1 ml de mélanine, 1 ml d'eau salée à 1/450 et 13 ml d'eau salée à 1/900. L'ensemble constituant le réactif, on agite ce mélange pour obtenir une bonne dispersion des grains de mélanine. On utilise trois tubes par sérum à tester, l'un contient 0,25 ml de sérum frais et 1 ml de réactif, un autre 0,25 ml de sérum chauffé et 1 ml de réactif, le troisième 0,25 ml de sérum frais et 1 ml d'eau distillée (ce dernier tube donne en général une floculation si le sérum est, selon Henry "instable et surfloculant", en ce cas on ne peut pas interpréter la réaction). Après deux heures d'étuve à 37°C, on lit les résultats en constatant la présence ou l'absence de flocons déposés au fond du tube. On peut aussi faire une lecture plus précise en utilisant un photomètre. Dans ce cas, le titre final de l'eau salée servant d'excipient est de 1/750, et non 1/900. La suite de

la technique reste la même. Au moment de la lecture, avant d'introduire les sérums dans la cuve du photomètre, retourner lentement deux fois les tubes sur le bouchon. On retranche du chiffre trouvé pour le tube 1 celui du tube 2. Au-dessus de 20 degrés Vernes, Henry considère le paludisme comme probable.

b) technique de Henry à l'hémozoïne mélanique

Plus récemment, Henry (156) a préconisé l'utilisation d'un réactif qu'il appelle hémozoïne mélanique, composé d'un volume de mélanine solubilisée (par la soude, l'antiformine ou un acide) et de quatre volumes d'hémozoïne artificielle. Voici comment on obtient cette dernière : on recueille 40 ml de sang sur citrate, on lave les hématies, et on les hémolyse par 720 ml d'eau distillée. On ajoute 80 ml d'acide chlorhydrique et, après deux jours, on ajoute 45 ml d'eau oxygénée à douze volumes. Après cinq à six jours, le précipité floconneux est chauffé et additionné de soude jusqu'à ce que se forme, à un pH d'environ 5, 6, un précipité granuleux brun foncé. Après lavage, ce précipité est dissous dans dix fois son volume d'alcool et alcalinisé par la soude. On concentre le réactif par évaporation ; le pH final est d'environ 7, 6. Le mélange hémozoïne et mélanine est titré, en opérant sur des sérums de sujets normaux et de paludéens, et avec des dilutions successives de 1/10, 1/11, etc... Au moment de pratiquer la réaction, on dilue l'hémozoïne selon le titre indiqué avec une solution de chlorure d'ammonium à 3, 25 p. 1000 . Ici on utilise deux tubes renfermant l'un du sérum frais, l'autre du sérum chauffé, et un troisième tube dit d'instabilité sérique. Pour les deux modalités techniques, si un précipité se produit dans le tube contenant le réactif et le sérum chauffé, Henry recommande de recommencer la réaction avec un réactif au taux salin plus élevé, par exemple 5 p. 1000.

Les premiers résultats publiés par Henry (149) furent très encourageants : tout d'abord la réaction était toujours négative sur le sujet sain, ainsi que sur les paludéens bien traités et en bonne santé. Elle était aussi négative chez deux cents sujets atteints d'affections diverses et sur quatre cents sujets syphilitiques. Elle était positive chez quatre cent cinquante paludéens à la phase floride de la maladie ; elle l'était aussi, à un taux de 86 p. 100 chez six cents anciens paludéens présentant des "séquelles viscérales" ; ces derniers cas étaient groupés par Henry sous le vocable "paludisme chronique".

A la suite des premières expériences de Henry, de nombreux travaux sur la question virent le jour. Il faut dire que l'étude de cette réaction fut considérablement facilitée par la pratique de l'impaludation thérapeutique de Wagner von Jauregg (357). Cette véritable expérience in vivo a donné une image schématique mais instructive de l'évolution de la réaction de Henry.

2) Valeur diagnostique de la réaction dans le paludisme selon divers auteurs

a) le paludisme provoqué

Dans le paludisme provoqué (Vaucel et coll. 343), la réaction a été étudiée par Chabrelie (37), Le Bourdelles et coll. (195), Lavergne et Monier (191), Cartana (33), Nanni (238), Alcay et coll. (6), Le Bourdelles et Fribourg-Blanc (198), Tsechnowitzer et coll. (334), Badensky et Bivol (8), Chorine (47), Koch et Wohwinkel (179), Driguez (97), Voigtländer (347), Greig et coll. (136), Lacour (188), Brandt et Horn (24), Lafuma (189), Thillard (308), Volavsek (348), De Graaf (87), Badensky et coll. (9), Vilkki (345), Schneider et Hartmann (277). La positivité de la réaction a été presque toujours constante, et elle est apparue dans des délais variables suivant les auteurs : en général après le sixième accès, parfois après le premier, parfois après le dixième, exceptionnellement plus tard. Le degré de positivité évoluait de pair avec les signes

cliniques, croissant en intensité d'accès en accès jusqu'au début du traitement : tous les auteurs s'accordaient à reconnaître que, pendant l'accès, il s'affaiblissait, la réaction pouvant même se négativer. En période apyrétique, la présence de parasites dans le sang périphérique ne négativait pas la réaction. Quant au traitement, il agissait tout de suite sur le degré de positivité : la montée de l'indice sérologique, établi par lecture photométrique, s'atténuait, puis la courbe s'infléchissait et redescendait plus ou moins rapidement.

Suivant les auteurs, les délais de négativation de la réaction étaient très variables, allant de quelques jours à quatre ans ; ils pouvaient dépendre de l'espèce parasitaire en cause, de l'intensité du traitement, du climat, et très probablement aussi de l'aptitude individuelle à l'immunisation et à la prémunition. Chorine (47) a observé que la positivité de la réaction disparaissait plus lentement quand les sujets étaient soumis aux piqûres d'anophèles.

b) le paludisme endémique

Dans le paludisme endémique (Vaucel et coll. 343), l'évolution de la réaction de Henry s'est montrée beaucoup plus variable que dans le paludisme provoqué. Elle s'est révélée intéressante dans le paludisme à incubation prolongée appelé aussi paludisme latent d'emblée. C'est ainsi que Nobécourt et Liège (242) ont trouvé une réaction positive chez un donneur de sang qui venait de transmettre à deux enfants une infection à P. malariae ; or sept à huit ans auparavant, il avait séjourné en zone palustre, n'avait jamais présenté d'accès, et avait absorbé de la quinine à titre préventif. Moldawskaya-Kritchewskaya (234), pratiquant la réaction sur un groupe de sujets habitant en zone d'endémie, en mars 1932, en a trouvé dix-neuf présentant une réaction de Henry positive, sans avoir jamais eu d'accès ; or six d'entre eux, un à deux mois plus tard, ont présenté des accès typiques, avec hématozoaires dans le sang périphérique ; cet

auteur ne pensait pas qu'on puisse attribuer ces accès à une infection récente.

Plus de deux cents travaux, se rapportant surtout à des régions d'endémie palustre, ont confirmé l'intérêt pratique de la réaction de Henry. Les auteurs appuient dans l'ensemble les constatations qu'Henry a résumées dans un mémoire de 1959 (161).

Après l'éclosion de la maladie, la réaction est devenue positive, d'après Henry, entre le troisième et le septième accès. Comme dans le paludisme provoqué, elle pouvait se négativer au moment des accès, ou tout au moins son degré de positivité pouvait être moins élevé (Henry 147, Chorine 47, Volavsek 348, Pozzi 247) ; sa positivité disparaissait entre deux accès (Pozzi 247, Chorine 47). Chorine et Rodieux (48), Nanni (238), Raynal (253), Hormann (166) ont vu que la réaction se négativait en général, dans les cas récents, un à deux mois après le début du traitement. Chez les paludéens réinfectés elle était à nouveau positive dans 80 à 100 p. 100 des cas, dès les premiers jours qui suivent les accès ; malgré le traitement elle se négativait beaucoup plus lentement (Meerssemann et Lacour 227). D'après Henry la réaction pouvait, après les accès, disparaître puis réapparaître avec les réinfections successives, une réponse négative à une seule réaction n'ayant pas de valeur. Pendant la période latente que Ed. Sergent (280) a appelé période de prémunition, la réaction a été trouvée positive, sans qu'on ait pu encore établir dans quelle proportion. Trensz (328), Marchoux et Chorine (219) ont signalé des rechutes chez des malades cliniquement guéris, mais ayant conservé une réaction de Henry positive. Vilkki (345) a noté que, parmi les malades ayant conservé une réaction positive malgré un traitement énergique, plus de la moitié avait présenté des rechutes ; il a remarqué qu'une seule réaction négative ne signifiait pas la guérison et n'excluait pas une rechute : ce fut le cas pour 6 p. 100 des malades qu'il a suivis.

c) le paludisme statique

Dans le paludisme statique (Vaucel et coll. 343), avec splénomégalie moyenne, où les sujets sont soumis à des réinfections ou des surinfections, ainsi en région holoendémique (Gabaldon et coll. 123), le degré de positivité de la réaction a été particulièrement intense ; cela peut s'expliquer si on admet que la positivité n'est pas en rapport avec le cycle érythrocytaire du parasite, ni avec le nombre de Plasmodium, mais avec le degré de réaction du système réticulo-histiocytaire à l'infection paludéenne, comme l'a montré Trensz (324) en 1935. Aussi les réactions ont-elles été positives au maximum dans les cas de cachexie palustre avec splénomégalie et hépatomégalie marquées. Sicault et Messerlin (288), Eysseric (110), Vialatte et Remontet (344), étudiant la réaction sur un groupe de sujets "qui se comportent à l'égard du paludisme comme des sujets de prémunition" ont conclu que la positivité des réactions sérologiques pouvait persister longtemps après la disparition des signes cliniques et hématologiques. Très récemment, Voller (353) a étudié la réaction de Henry en Nigéria, sur 130 sujets ; ses résultats ont montré une nette discordance entre parasitémie et positivité de la mélano-réaction (MR).

d) négativation de la réaction

Les délais de négativation de la réaction, encore inconnus dans les régions où sévit un paludisme endémique, ont été bien étudiés sur les paludéens rapatriés. Marchoux et Chorine (219) ont constaté que la proportion des réactions positives allait en diminuant rapidement : elle était de 44 p. 100 six mois après le retour en métropole, de 33 p. 100 après un an, de 9 p. 100 après deux ans. Ces délais concordent avec ceux de la guérison clinique.

Après deux ans une réaction positive est aussi exceptionnelle que les rechutes éloignées. Celles-ci ont été étudiées sur d'anciens paludéens

de l'armée d'Orient. Sur un premier groupe de 83 sujets, onze à seize ans après le rapatriement, Le Bourdelles et Liégeois (194) ont trouvé 9 réactions positives ; sur un second groupe de 36 sujets, et dans les mêmes délais, 3 réactions positives. Meerssemann et Lacour (228) ont trouvé 8 réactions positives sur 89 anciens paludéens, après deux ans, Lacour (188) 7 réactions positives sur 62 sujets. Enfin, toujours après deux ans, Marchoux et Chorine (219) ont obtenu 7 réactions positives sur un groupe de 190 anciens paludéens, dont aucun n'était porteur d'hématozoaires.

e) critères de guérison du paludisme

Henry (150, 161, 162), Meerssemann et Lafuma (229) et d'autres auteurs ont observé qu'au décours de l'affection la réaction pouvait être positive ou négative d'un examen à l'autre, et qu'il fallait répéter les examens pour s'assurer de la constance de la négativité. D'ailleurs un sujet qui n'a pas présenté d'accès depuis longtemps et dont le sérum présente une réaction négative peut être sujet à des rechutes. Les observations sur les rapatriés des zones impaludées ont indiqué simplement que la réaction se négativait globalement dans les délais de guérison spontanée du paludisme, c'est-à-dire après un ou deux ans.

f) le paludisme provoqué chez les animaux

Fabiani et coll. (112) ont constaté que la MR, pratiquée avec l'antigène mélanoferrique ou avec l'hémozoïne devenait positive le sixième jour de l'accès aigu expérimental à P. berghei du Rat blanc et s'accentuait les jours suivants. Elle devenait négative après trois à quatre mois. Nous-même, avec Trensz (333), avons relevé treize MR positives sur cinquante souris impaludées par P. berghei ; sur un groupe témoin de cinquante souris saines, nous avons obtenu quatre MR positives.

3) Spécificité de la réaction de Henry

La réaction de Henry est donc presque constamment positive durant la phase floride de l'infection palustre (phase des accès) ; elle peut encore rester positive pendant la phase d'infection latente, et devient négative dans les délais de la guérison clinique. Dans l'ensemble elle suit donc de très près l'évolution de la maladie. Il faut signaler par ailleurs qu'elle est toujours négative chez le sujet biochimiquement sain ; cette constatation, faite par Henry (149), a été confirmée par Adida (2, 3), Pozzi (247), Le Bourdelles et coll. (195), Lavergne et Monier (191), Corradetti (71), Chorine (46), Driguez (97), Dhont (90), Lacour (188), Voigtländer (347), Trensz et coll. (331).

Le doute sur sa valeur pratique s'est élevé quand de nombreux auteurs ont constaté que sa positivité se manifestait non seulement dans le paludisme mais encore dans un certain nombre d'autres mdadies, avec une fréquence très variable. Il existe à ce sujet une vaste documentation, mais qu'on peut critiquer pour plusieurs raisons :

- la technique de la réaction n'a pas toujours été appliquée dans les mêmes conditions ; en effet le réactif de Henry n'a pas été diffusé par voie commerciale et les expérimentateurs l'ont souvent préparé eux-mêmes ; les réactifs utilisés ne présentent pas toujours les mêmes qualités
- les chercheurs n'ont pas toujours précisé à quel stade de la maladie la réaction a été exécutée
- les sérums ont été recueillis dans des milieux hospitaliers qui ne sont pas comparables d'une région ou d'un pays à l'autre ; le pourcentage global de réactions dites "aberrantes" varie donc beaucoup d'un auteur à l'autre.

Il est possible d'expliquer précisément pourquoi le taux de positivité de la réaction est élevé dans certaines affections. Celles-ci sont assez diverses.

a) trypanosomiase

Dans la trypanosomiase, Trensz (318), Trensz et Jardon (321) ont trouvé une MR positive chez des cobayes inoculés par Tr. berberum, et Matveev (225) chez des rats infectés par Tr. gambiense, la réaction évoluant parallèlement à l'infection. En 1934, Henry (151) a signalé que Meerssemann, sur 9 cas d'infection à Tr. berberum chez le cobaye, n'avait obtenu aucune mélanoréaction positive. De son côté, Lacour (188), sur onze cas de trypanosomiase (deux cas de trypanosomiase humaine et neuf cas de trypanosomiase animale), n'a obtenu aucune réaction positive. Henry (160) a personnellement observé des réactions positives exceptionnelles. Récemment nous avons, avec Trensz (333), étudié la MR sur des lapins infectés par T. gambiense ; nous avons d'abord vérifié qu'elle était négative avant inoculation. Cinq semaines en moyenne après l'inoculation, 7 lapins sur 11 ont présenté une MR positive. Nous avons aussi expérimenté sur des cobayes ; sur 18 inoculés, 2 ont eu une MR positive ; l'infection s'est développée très vite, ces animaux ont survécu à peine un mois. La réaction mésenchymateuse n'a peut-être pas eu le temps de se développer.

b) leishmaniose

Dans la leishmaniose expérimentale, Trensz (318) et Le Bourdelles (197) ont trouvé une MR positive ; Villain et Dupoux (346) ont fait la même constatation dans la leishmaniose humaine ; ces derniers écrivaient : "... le sérum, dans cette maladie, flocule immanquablement et massivement par les mélanines artificielle ou naturelle". C'était aussi l'avis de Lebon et Fabregoule (193), Chorine et coll. (52), Benhamou et Gille (15), Liviérato et Salata (202). La positivité était considérée comme fausse par Henry (158, 161) ; en effet selon cet auteur l'utilisation d'un témoin-sérum inactivé permet d'éliminer le kala-azar, ainsi que le typhus ; s'il y a floculation, on doit refaire la réaction en augmentant le taux de sels

diluants ; Henry ajoutait que "si la MR est réellement positive, on pensera à la coexistence des deux parasites." (158)

c) fièvre récurrente

Matveev (225) a trouvé une MR positive dans un tiers des cas de fièvre récurrente après le premier accès, et chez tous les malades après le deuxième ; la réaction était également positive chez tous les rats infectés par le spirochète. Vilkki (345) a fait sur l'homme des constatations analogues.

d) typhus exanthématique

Dans le typhus exanthématique, Tsechnowitzer et coll. (334) ont trouvé la MR positive dans 92 p. 100 des cas, depuis la phase aiguë jusqu'à la convalescence, avec un maximum de positivité du 12e au 20e jour. Leur statistique portait sur 95 malades ; ils observaient par ailleurs une concordance très nette entre MR et réaction de Weill-Félix, mais la MR ne devenait négative que longtemps après la fin de la maladie. Villain et Dupoux (346) ont fait la même constatation sur les trois-quarts de leurs cas, mais ils supposaient que la réaction était différente de celle du paludisme. Karout et Moldawskaya-Kritchewskaya (173) ont signalé la positivité de la réaction dans la fièvre exanthématique des lapins et des cobayes. Gerbinis (130) a constaté lui aussi un taux élevé de MR positives dans le typhus. Henry a trouvé sa réaction positive dans quelques cas (153).

e) hépatites

α) hépatite paludéenne

L'étude de la réaction de Henry mérite un intérêt particulier dans certaines hépatites. Au cours du paludisme, plusieurs études, menées depuis 1935, ont montré que se développait une véritable hépatite, de courte durée dans le paludisme provoqué, plus ou moins prolongée,

même chronique dans le paludisme endémique. En 1935, Trensz (324) a pensé à une atteinte du foie lors de l'infection palustre, plus particulièrement des cellules de Kupffer, un lien indirect s'établissant ainsi entre positivité de la réaction de Henry et présence d'hématozoaires, par l'intermédiaire de certains territoires du système réticulohistiocytaire.

De 1937 à 1940, Sicault et Messerlin (288) ont consacré quelques études à la "réticuloendothéliose palustre", et ont décrit trois stades dans son évolution.

Wolff (364), en 1939, a pensé que les perturbations sériques déjà mises en évidence à cette époque (augmentation du taux des globulines, chute du taux de la sérum-albumine et du cholestérol), pouvaient être d'origine hépatique, mais les connaissances des modifications pathologiques provoquées par une atteinte hépatique étant alors trop fragmentaires, il s'est refusé à affirmer le rôle du foie dans leur genèse.

Kopp et Solomon (180, 181), Lebon et Fabregoule (193) ont constaté dans le paludisme d'inoculation une perturbation des tests d'épuration hépatique (chute du cholestérol estérifié, test de Hanger positif).

Cette notion assez ancienne de l'atteinte hépatique dans le paludisme a été solidement établie par une série de travaux d'auteurs anglo-saxons (Makari 215, Carter et Mac Lagan 34, Schneider et Shallenberger 273, Mac Lagan 214, White et Doerner 362, Fuhrmann et Peltzer 122), de Bertrand-Fontaine et coll. (17), de Hartmann (140), Hartmann et coll. (141), de Schneider (275), de Schneider et Hartmann (274, 276), de Roubier (259), de Roche (258).

Schneider et Hartmann (277) ont pratiqué la réaction de Henry chez des impaludés à titre thérapeutique, et ont constaté "qu'elle ne devient positive que secondairement aux premières modifications des réactions qui témoignent de la labilité plasmatique, que lorsque les autres réactions sont devenues franchement positives et aussi au moment où apparaissent les signes de l'hémolyse". Pensant d'ailleurs à une relation

possible entre l'hémolyse et la positivité de la réaction de Henry, ces auteurs ont étudié cette dernière, en dehors d'affections hépatiques, chez trois malades atteints d'anémie hémolytique : elle était nettement positive, ainsi d'ailleurs que toutes les autres réactions de labilité plasmatique. Lacour (188) avait déjà signalé trois réactions de Henry positives chez trois malades atteints d'anémie hémolytique. D'ailleurs Henry a reconnu (154) qu'elle pouvait être positive dans quelques syndromes hémoclasiques.

On sait depuis les travaux de Shortt et Garnham (283) que la première phase du cycle exoérythrocytaire de l'hématozoaire, ou encore période proérythrocytaire, se passe dans la cellule hépatique ; les cryptozoïtes s'y développent, ce qui provoque des troubles fonctionnels (Roubier 259). On admet que P. falciparum et P. malariae n'ont qu'une seule phase tissulaire de la schizogonie proérythrocytaire (Garnham 125, Ciuca et coll. 59, Vaucel 342, Ballif-Negulici et Constantinesco 10, Ciuca et coll. 56). La cellule parenchymateuse hépatique est directement atteinte par l'hématozoaire, ce qui explique les symptômes cliniques et biochimiques d'une hépatite.

β) autres hépatites

Ce fait a conduit à penser que dans d'autres hépatites, où les lésions sont similaires, on peut observer une MR positive, considérée comme "aberrante" par Henry. Peu après sa publication, plusieurs auteurs avaient remarqué que la réaction était souvent positive dans plusieurs cas d'ictères : Costadoni (75), Kappus (171), Brandt et Horn (24), Ravina et Maignan (in 345), Trensz (328).

L'hépatite virale surtout doit retenir l'attention. A notre connaissance, Vilkki (345) a été le premier en 1945 à pratiquer la MR sur de nombreux malades présentant cette affection. Il a tout d'abord constaté, sur 252 sujets sains, qu'aucun sérum ne donnait de réaction positive.

Puis il a étudié la réaction sur 287 jeunes soldats (dont l'âge moyen était au-dessous de 25 ans) atteints d'hépatite virale ; il a pratiqué en tout 996 réactions, à différents intervalles de temps. Il n'a observé aucun parallélisme entre le taux de bilirubine et le degré de positivité de la réaction.

Vilkki pensait que la réaction de Henry était surtout positive dans les hépatites diffuses (cirrhose, hépatite épidémique, ictère toxique) ; elle suivait de près l'évolution clinique et, étant très sensible, se prêtait bien au contrôle régulier encore longtemps après la phase aiguë. Il pensait aussi qu'elle avait, au cours du deuxième mois suivant le début de l'hépatite, une réelle signification pronostique : chez sept de ses malades, l'intensité de la réaction a baissé très lentement, et cinq d'entre eux ont évolué vers une cirrhose. Il est regrettable que cet auteur n'ait pu pratiquer en même temps les réactions de Hanger et de Mac Lagan ; celles-ci étaient encore à l'étude.

En 1955, Schneider et Hartmann (277) ont pratiqué la MR (selon la technique de Henry) et les tests hépatiques sur six sérums d'hépatite infectieuse ; ils n'ont obtenu une réaction positive que dans un cas, allant d'ailleurs de pair avec une réaction de Mac Lagan positive ; sur les cinq autres sérums, réaction de Henry et test de Mac Lagan étaient négatifs. Le test de Hanger était positif sur les six sérums.

Eysseric et coll. (111), dans une étude comparative de la réaction de Henry faite en 1957 sur 31 cas d'hépatite infectieuse, ont trouvé 7 MR positives, mais des tests hépatiques positifs chez 25 malades.

Pour Decourt (85), la positivité de la MR va de pair avec les modifications des autres épreuves dites "fonctionnelles hépatiques", témoins de la labilité plasmatique au cours de diverses affections hépatiques ou même sanguines. Il ajoute "... c'est pourquoi, à mon avis, la réaction de Henry doit être considérée plus comme une épreuve du fonctionnement

hépatique que comme une réaction spécifique de la sérologie du paludisme". Henry d'ailleurs écrivait récemment (162) : "Il y a des sérums avec lesquels il vaut mieux ne pas faire d'épreuve ou ne pas conclure ; cette règle est à suivre pour les sérums suspects d'ictère épidémique où la bilirubinémie parfois attire déjà l'attention".

f) cirrhoses

Il existe d'autres affections hépatiques où la MR a été trouvée positive par plusieurs auteurs ; ce sont certaines cirrhoses d'étiologies diverses. La positivité y est d'ailleurs inconstante. Il existe peu de publications se rapportant à l'étude de la MR sur des sérums de cirrhotiques. Meerssemann et Lacour (227), sur le sérum de 4 cirrhoses hypertrophiques ont trouvé toujours la MR négative, à condition qu'elle soit faite en milieu salé à 6 p. 1000. Driguez (97) a obtenu une réaction positive chez un sujet atteint de cirrhose de Laënnec avec ascite. Henry a contesté la positivité de la MR dans la cirrhose ; il a écrit (150) : "si l'on envisage la mélanofloculation comme une banale instabilité sérique, on s'attendra à la rencontrer dans divers états où cette instabilité s'observe (syphilis, tuberculose, cirrhose, leucémie, etc...) ; avec nos nouvelles techniques et notre dernier réactif, on écartera pratiquement les fausses réactions." Lacour (188) a rapporté que 7 sérums provenant de malades atteints de cirrhose hypertrophique ont donné 7 réactions négatives. Trensz (326) sur deux cas de cirrhose, a trouvé deux MR positives. Fabregoule (115) a signalé que la réaction était positive dans un tiers des cas de cirrhose. Volavsek (348) reconnaissait que "la réaction de Henry est habituellement spécifique du paludisme, mais qu'elle est cependant toujours positive dans la cirrhose du foie". Il pensait qu'il est probable que les mêmes phénomènes de labilité de certaines protéines président au mécanisme de ces réactions. Darbon et coll. (81) ont fait les mêmes constatations. Schneider et Hartmann (277) ont eu trois réactions de Henry positives sur trois

sérums de cirrhotiques, avec épreuves fonctionnelles hépatiques perturbées.

g) syphilis

On a souvent signalé aussi la positivité de la réaction de Henry dans la syphilis ; le caractère disparate des données statistiques apparait ici nettement. Au Congrès du Paludisme, en 1930, Henry (149) signalait que sur 400 sérums de sujets syphilitiques aucun n'avait donné de MR positive, en écartant évidemment un paludisme associé. Le Bourdelles et coll. (195), sur 118 sérums de malades sûrement non paludéens, ont trouvé 19 sérums à MR positive, dont 3 provenant de syphilitiques au stade secondaire. Villain et Dupoux (346) sur 41 sérums à BW positif ont noté 4 MR franchement positives, et 4 douteuses ; le pourcentage était pratiquement le même sur des sérums d'anciens syphilitiques à BW négatif. Bonalberti (19), sur des sujets sains ou atteints de maladies autres que le paludisme, a trouvé 13 p. 100 de réactions de Henry positives "dont un certain nombre présentait un BW positif." Meerssemann et Lacour (228), sur onze sérums de syphilitiques, en ont trouvé un à MR positive. Pour Nanni (238) la présence d'une syphilis associée au paludisme ne trouble pas la réaction. Farjot (117) a noté que sur quatre sérums non paludéens, à MR positive, trois étaient d'origine syphilitique. Lacour (188) n'a trouvé qu'un sérum à MR positive sur trente-huit sérums de syphilitiques. Livierato et Salata (202) ont eu un taux de positivité de 14 p. 100, Volavsek (348) de 22 p. 100 et Lippelt (200) de 35 p. 100. Enfin Chorine et Prudhomme (51), Dhont (90), Voigtländer (347) et Vilkki (345) ont signalé que la réaction de Henry était positive de façon inconstante dans la syphilis.

Récemment, avec Trensz et coll. (331) nous avons pratiqué, sur cinquante sérums à réactions sérologiques positives (réactions de Kolmer et de Kline, réaction à l'antigène de Reiter), une MR et un bilan protéique ;

neuf sérums ont présenté une MR positive et des perturbations protéiques analogues à celles relevées dans les cas d'hépatite ou de cirrhose à syndrome biochimique caractéristique. Aucun des sérums à BW positif et à bilan protéique normal ne présentait de MR positive.

Les discordances relevées plus haut s'expliquent par le fait qu'on ne connaissait pas alors l'étroite relation entre l'hépatite et la positivité de la MR ; dans la syphilis la MR est positive dans la mesure où existe une hépatite associée, de nature syphilitique ou autre.

h) autres affections

La MR a été trouvée positive dans des cas isolés d'affections diverses : la mononucléose infectieuse (Eysseric 110, Trensz et coll. 331), la typhoïde (Villain et Dupoux 346, Dhont 90, Akashi et Nakashima 4), l'anémie pernicieuse (4), la tuberculose (Bruce-Chwatt 28), etc... ; nous renvoyons au tableau très complet que Vilkki (345) a dressé d'après les statistiques de nombreux auteurs.

i) conclusion

Les résultats des études statistiques globales sur la positivité de la réaction de Henry ailleurs que dans le paludisme concordent bien d'un auteur à l'autre : Trensz a avancé le chiffre de 6 p. 100, Le Bourdelles et Liégeois 6 p. 100, Livierato et Salata 7 p. 100, Marchoux et Chorine 6 à 8 p. 100, Vilkki 6 p. 100, De Graaf 11 p. 100 ; tous ces pourcentages ont été établis en milieu hospitalier et sur des sérums pris au hasard. Ces données expliquent la désaffection dans laquelle est tombée la réaction de Henry peu de temps après la publication de ces chiffres.

III. - Evolution des techniques se rapportant à la réaction de Henry

Henry et d'autres expérimentateurs ont essayé d'améliorer la qualité du réactif, de choisir un meilleur excipient, de simplifier la technique.

1) Perfectionnement de l'antigène

Henry lui-même, peu après avoir publié ses premiers résultats obtenus par l'hémozoïne additionnée de sels de fer, chercha un produit de substitution facile à obtenir en quantité suffisante. Envisageant la possibilité d'une parenté antigénique entre l'hémozoïne paludéenne et la mélanine choroïdienne, il a essayé tout d'abord la mélanine choroïdienne de l'oeil de boeuf, puis successivement la mélanine de mélanosarcome de cheval, la mélanine de seiche, et une hémozoïne artificielle préparée par oxydation de l'hémoglobine.

Si l'hypothèse de Henry avait été exacte, les réactions obtenues à partir de l'hémozoïne auraient dû être plus sensibles et plus spécifiques que celles obtenues par les différents dérivés ; c'est pourquoi Trensz (325) étudia en 1935 la valeur diagnostique et les propriétés antigéniques de l'hémozoïne. Celle-ci a été isolée du foie et de la rate de deux malades ayant succombé à un accès pernicieux de P. falciparum. Par le procédé d'extraction de Warasi (358), il isola le pigment sous forme d'une poudre brun foncé présentant à l'analyse physicochimique les propriétés de l'hémozoïne. En remplaçant alors les grains de mélanine choroïdienne du réactif de Henry par des grains d'hémozoïne, il constata, à même densité optique, sur des sérums témoins et des sérums de paludéens, que l'hémozoïne entraînait une floculation de ces derniers ; mais les réactions étaient moins intenses et moins sensibles qu'avec la mélanine choroïdienne. Puis il appliqua à l'hémozoïne la même technique de solubilisation à la soude qu'à la mélanine choroïdienne. Ici encore le pouvoir floculant et la spécificité de l'hémozoïne solubilisée étaient inférieurs à ceux de la mélanine.

Il en a conclu qu'il n'y avait aucun intérêt théorique ni pratique à utiliser le vrai pigment paludéen : l'hémozoïne a une autre constitution que la mélanine, et il ne lui a jamais découvert de propriétés antigéniques, contrairement à l'opinion de Henry.

D'ailleurs le choix de tel ou tel réactif n'était pas le seul point fondamental. Henry écrivait en 1929 (148) : "Il est a priori un peu délicat d'essayer une méthode photométrique en partant d'une suspension difficile à établir d'une façon toujours identique à elle-même et dans laquelle certains éléments autres que la mélanine peuvent intervenir. Il y aurait évidemment intérêt à obtenir une purification de la mélanine et à la remettre en suspension. Nos recherches à ce sujet ne sont pas encore au point."

Trensz (327) a ainsi défini les inconvénients du réactif de Henry :
- du fait de sa teneur en substances putrescibles (pigment et corps vitré de l'oeil) il ne se conserve qu'en glacière et pendant un temps limité
- les grains de pigment s'agglomèrent et sédimentent dans le liquide de suspension dont le titre subit ainsi de légères fluctuations, ce qui rend délicate la lecture photométrique ; il est donc nécessaire d'agiter souvent le flacon de réactif
- l'adjonction, préconisée par Henry, du corps vitré et de formol au réactif facilite la lecture à l'oeil nu, mais diminue la densité optique
- le formol ne présente pas toujours le même degré d'acidité
- les excipients de natures différentes ne permettent pas toujours l'établissement de courbes sérologiques.

C'est pour essayer de pallier ces inconvénients qu'un premier procédé de purification et de stabilisation a été proposé par Trensz en 1934 (323). Le principe en est le suivant : le pigment choroïdien est insoluble dans l'eau et en milieu acide ; il se dissout au contraire dans les bases fortes ; soumis à des dissolutions répétées en milieu alcalin, suivies de précipitations par acidification, il devient, dès la troisième dissolution, entièrement soluble dans l'eau, tout en demeurant aussi actif que dans son état initial.

D'autres procédés de solubilisation du pigment mélanique ont ensuite été recherchés. Greig et coll. (136), par hydrolyse en milieu chlorhydrique, ont obtenu une mélanine solubilisée à partir de cheveux humains noirs ; l'acide chlorhydrique était ensuite éliminé par dialyse, et le liquide brunâtre représentant la mélanine solubilisée était neutralisé par la soude et stérilisé par ébullition en ampoules.

En 1936 Villain et Dupoux (346) ont préparé une mélanine artificielle de couleur noirâtre en oxydant la tyrosine par le perchlorure de fer et l'eau oxygénée. En 1947 Henry (155) a préparé une hémozoïne artificielle ; nous avons exposé plus haut son mode de préparation. Ce réactif a été essayé par Landon (190), qui estimait qu'il avait une valeur au moins égale à celle de la mélanine choroïdienne. Darbon et coll. (81) ont fait les mêmes constatations mais ont remarqué que les réactions aberrantes existaient tout comme avec la mélanine choroïdienne.

2) Choix d'un excipient

Les différents adjuvants choisis par Henry et entrant dans la composition de son réactif présentaient un certain intérêt. C'est ainsi que l'adjonction de formol rend la réaction mieux visible à l'oeil nu en facilitant la formation de flocons. Le corps vitré a les mêmes propriétés, plus accusées encore, et neutralise aussi l'acidité du formol. Avec l'utilisation de mélanine solubilisée, ces adjuvants, causes d'imprécisions, deviennent inutiles.

Après la recherche d'un réactif simple et stable, les expérimentateurs ont étudié différents excipients.

Scherer (271) a sans doute le premier noté qu'un précipité se formait quand du sérum dilué par l'eau distillée était très légèrement acidifié. Klaussner (176), en 1908, avait observé le pouvoir précipitant de l'eau distillée sur certains sérums de sujets syphilitiques. Puis Sia (285), en 1924, conseilla l'utilisation d'eau distillée pour le diagnostic du kala-

azar. Dès le début de ses études sur la réaction,Henry (in Trensz 320) avait constaté que plusieurs sérums de paludéens précipitaient en eau distillée. La positivité du phénomène de Klaussner sur de tels sérums suggéra à plusieurs auteurs de préconiser uniquement la réaction à l'eau distillée pour le diagnostic du paludisme, ainsi Marchoux et Chorine (219), Chorine et Prudhomme (51), Le Bourdelles et Mauvais (199).

Pour éviter la confusion entre sa réaction et la réaction de Klaussner, Henry a recommandé l'utilisation, en plus de l'eau distillée, d'une solution de Cl Na à 3 p. 1000.

Cette complication de la technique a rendu souhaitable la recherche d'un seul excipient de concentration telle que le sérum n'y floculait pas spontanément. Trensz (327) a expérimenté les solutions aqueuses de sels neutres de sodium, de potassium, d'ammonium et de calcium ; par méthode photométrique, l'effet de ces différents sels sur la mélanine solubilisée se mesure d'ailleurs mieux que sur la mélanine non traitée. L'expérience a montré que tous les sels étudiés avaient une influence sur la réaction, et que le chlorure d'ammonium, à la concentration de 3 p. 1000, mettait le mieux en valeur l'action élective de la mélanine, tout en écartant nettement la surfloculation. La solution de chlorure d'ammonium a d'ailleurs été adoptée par Henry (159), Villain et Dupoux (346), Fabregoule (115), De Graaf (87), Sicault et Messerlin (287).

IV. - Explication de la réaction

Il faut distinguer plusieurs phases dans l'évolution des idées sur la conception du déroulement de la réaction.

1) Conception immunologique

a) Henry a pensé d'abord qu'il s'agissait d'une réaction antigène-anticorps. Dans sa communication de 1927 à l'Association française pour

l'avancement des Sciences, Henry (146) écrivait : "... Le principe qui a guidé nos recherches ne paraît guère avoir été envisagé jusqu'à présent en technique sérologique. Dans les travaux récents faits sur le pouvoir précipitant ou floculant de divers sérums, on a surtout envisagé cette propriété comme un phénomène physicochimique en quelque sorte fortuit, quoiqu'assez constant pour certains sérums vis-à-vis de certaines substances (A. Vernes et coll.). Mais la floculation peut, on le sait, être envisagée aussi comme un phénomène du domaine de l'immunologie. La floculation se présente dans ce cas comme une réaction de l'organisme qui produit des anticorps vis-à-vis de certaines substances étrangères, les antigènes introduits de l'extérieur (exoantigènes) pouvant d'ailleurs se multiplier sur place. A côté des exoantigènes, nous envisageons des antigènes produits dans l'organisme même à la faveur de divers processus (infectieux ou autres). Ces antigènes que nous appellerons "endogènes" peuvent donner lieu à la formation d'anticorps spéciaux, les "antiendogènes". Tel est le principe de nos recherches. En exposant le processus anatomopathologique de l'intoxication palustre, Kelsch et Kiener (174) ont montré que toutes les lésions laissant des traces sur le cadavre sont subordonnées à l'accumulation dans l'organisme de deux pigments dérivés de l'hémoglobine : l'un, le pigment ocre renfermant du fer ; l'autre, le pigment mélanique, moins bien connu dans sa composition. Kelsch et Kiener ajoutent que la formation des deux pigments se poursuit tout au cours de l'infection ; mais que bientôt la formation du pigment mélanique devient inconstante puis exceptionnelle tandis que celle du pigment ferrugineux semble augmenter et peut acquérir une intensité comparable à celle observée dans certaines anémies progressives. Pour nous, ces pigments constituent de véritables "endogènes" et doivent donner lieu à la formation d'antiendogènes. C'est ainsi que nous avons été amené à constater le pouvoir floculant des sérums de paludéens en présence de certaines solutions ferriques et de suspension de mélanine..."

b) Deux sortes de recherches ont été faites pour vérifier l'hypothèse de Henry :

α) reproduction expérimentale de la réaction in vivo par injection de pigments (hémozoïne, mélanine, sang parasité) à des animaux de laboratoire : dès 1931 Rocchi (256) a procédé à des intradermoréactions à la mélanine et a constaté chez les personnes indemnes de paludisme un taux de positivité très élevé pour un taux faible chez les sujets impaludés. Quelques années plus tard il a remarqué que l'injection d'hémozoïne à des lapins conférait à leur sérum des propriétés floculantes (257).

Kritchewsky et Demidova (184) en 1933 ont injecté à des oiseaux de l'espèce Achantis linaria du sang de même espèce très parasité et laissé auparavant pendant quarante-huit heures à + 4°C ; des propriétés floculantes sont apparues dans le sérum de ces animaux.

La même année, Chorine et Gillier (50) ont essayé d'immuniser des lapins avec de la mélanine de sarcome de cheval sans constater dans leur sérum l'apparition de telles propriétés.

Trensz (325), en 1935, a utilisé le pigment paludéen et l'hémozoïne isolée du foie et de la rate de deux malades morts d'accès pernicieux à P. falciparum. Pendant un mois il injectait à onze lapins, par voie intraveineuse et à doses croissantes, de l'hémozoïne (trois lapins), de la solution d'hémozoïne (deux lapins), de la mélanine choroïdienne non traitée (trois lapins), de la solution de mélanine choroïdienne (deux lapins), et de l'albuminate de fer (un lapin). Ces animaux ont été soumis ensuite à la double épreuve de l'intradermoréaction croisée et de la sérofloculation. Pour l'intradermoréaction, les pigments ont été employés à l'état de solution. Les lapins immunisés ont réagi exactement comme les lapins-témoins, en présentant douze heures après l'injection d'épreuve une plaque de rougeur oedémateuse de un à trois centimètres de diamètre. Quant aux sérofloculations croisées, elles ont été franchement négatives.

En résumé les essais de reproduction expérimentale de la réaction in vivo donnaient des résultats contradictoires et ne permettaient pas de conclure.

β) Recherche d'anticorps, par les méthodes sérologiques classiques et par l'intradermoréaction, chez les animaux ainsi préparés :

Baserga (13) a constaté en 1935 que le sérum de sujet paludéen ajouté à la mélanine choroïdienne empêchait l'hémolyse dans la réaction de déviation du complément, mais n'a pas considéré pour autant la réaction de Henry comme une réaction antigène-anticorps.

Kritchewsky et Rubinstein (185) avaient, en 1935, prétendu transformer la mélanine de l'oeil de boeuf, qu'ils considéraient comme un haptène, en antigène par addition de sérum de porc. Les résultats n'ont pas été concluants. D'après Westphal (360) le sérum de porc injecté seul à des lapins est capable de faire naître dans leur sérum des propriétés floculantes vis-à-vis de la mélanine de Henry. La réactivité du sérum dépendrait de l'hôte. Il a obtenu des réactions positives chez le chat et le chien, mais des réactions négatives chez d'autres espèces.

Comme on dispose actuellement de méthodes de détection d'anticorps très sensibles, Trensz et Raab (329) ont repris l'étude des éventuelles propriétés antigéniques de la mélanine. Au vu de la composition en amino-acides de la fraction protéique de la mélanine solubilisée, ils ont envisagé la possibilité d'élaboration d'anticorps antimélaniques par le lapin en pensant que l'emploi d'un immun-sérum ainsi préparé pourrait aider à mieux définir le mécanisme de la MR. Ils ont préparé une solution de mélanine concentrée au demi, sans phénol conservateur, stockée congelée à - 30°C ; deux lapines non albinos ont reçu chacune sept injections intraveineuses de cette solution et sept injections sous-cutanées de la même solution additionnée de deux volumes d'adjuvant de Freund (Difco).

positive dans la leishmaniose canine expérimentale.

Il ressort de cet ensemble de faits que l'hypothèse de Henry n'a pas trouvé de vérifications expérimentales. La recherche des anticorps est restée négative avec les moyens d'investigation sérologique les plus sensibles actuellement disponibles. L'hypothèse de Henry, ingénieuse mais inexacte, s'est pourtant révélée féconde.

2) Conception physico-chimique

Devant l'échec de la conception immunologique de la réaction il fallut chercher une autre voie.

Deux notes de Trensz (316, 317), parues en 1932, ont orienté les recherches sur le plan physico-chimique. Cet auteur a cherché à préciser les relations existant entre la réaction de Henry et la floculation du sérum par l'eau distillée qu'Henry appelle "surfloculation". Trensz a constaté que "lorsque le sérum donne une réaction faiblement positive en présence de l'un ou l'autre antigène (fer ou mélanine) les tubes témoins, contenant du sérum et de l'eau distillée, ne floculaient pas en général. Mais lorsque le sérum donne, en présence des antigènes, une réaction fortement positive, il flocule également, assez souvent, dans les tubes témoins contenant de l'eau distillée sans antigène. La quantité de substance floculée est toujours plus importante dans le tube qui contient l'antigène que dans le tube témoin. Par conséquent, la courbe de la surfloculation dans les tubes témoins présente, sauf de rares exceptions, un certain parallélisme avec la courbe de la surfloculation dans les tubes à antigène. Elle lui reste toujours inférieure."

Il conclut qu'"on peut émettre l'hypothèse que les deux phénomènes de la floculation des sérums de paludéens en présence des antigènes de Henry et de la surfloculation que peuvent présenter les mêmes sérums dans les tubes témoins sans antigène sont de même nature et témoignent d'un même trouble sérique : il n'y aurait entre les deux phénomènes qu'une

différence de degré. L'instabilité du sérum des paludéens qui, au début de l'infection, ne se révèle pas spontanément mais seulement en présence des réactifs comme ceux de Henry (mélanine et albuminate de fer), arrive, aux stades avancés de l'infection, à se manifester par le phénomène de la surfloculation, quand on ajoute simplement de l'eau distillée au sérum." Cette hypothèse sera par la suite reprise et développée par Chorine et ses collaborateurs.

Existe-t-il un lien chimique entre floculation par l'eau distillée et MR ?

Lloyd et Paul (203), en 1929, ont constaté les premiers que les taux d'euglobulines étaient augmentés chez les paludéens.

Depuis, le fait a été confirmé par les travaux de Boyd et Proske (22), de Kopp et Solomon (180), de Lippincott et coll. (201), de Dole et Emerson (95), de Vargues (340), de Kuvin et coll. (186). Les travaux de Ghosh et Sinton (131), de Corradetti et coll. (72), de Tella et Maegraith (307), de Woodruff (366), de Sherman et Hull (281), portant sur le paludisme expérimental des animaux, comportent des conclusions analogues.

Holmes (163), Milam (231), Mohun (233), Holmes et coll. (164), Rawnesley et coll. (251), Deegan et coll. (86), Edozien (106), Schofield (278) et Kariks et Hipsley (172) ont établi que les taux de gammaglobulines sont plus élevés dans les régions tropicales que dans les pays tempérés. Et cette élévation est probablement due, en partie au moins, à l'infection palustre (Mac Grégor et coll. 208, Edozien et coll. 107, 108, Gilles et Mac Grégor 133, Mac Gregor et Gilles 209, Schur 279). Il a été aussi démontré que des transfusions de gammaglobulines ont une action antipalustre (Cohen et coll. 63, Cohen et Mac Gregor 64, Edozien et coll. 108, Mac Gregor et coll. 210). En 1965, Curtain (80) a souligné que toutes les gammaglobulines en excès ne pouvaient pas être considérées comme des anticorps spécifiques antipalustres.

On doit à Gille (132) l'idée que la réaction de Henry et la surfloculation dans l'eau sont toutes deux liées aux euglobulines du sérum. Etudiant la formol-gélification de Gaté et Papacostas (127), Gille constata une certaine similitude entre sérum de paludéen et sérum de kala-azar. Il a observé une corrélation assez fréquente entre surfloculation dans l'eau distillée, positivité de la réaction de Gaté et de la réaction de Henry, dans le paludisme et dans d'autres maladies. Le kala-azar étant caractérisé par une forte augmentation du taux des euglobulines, il a conclu que la surfloculation dans l'eau (Brahmachari 23), la formol-gélification de Gaté et la réaction de Henry paraissaient objectiver un même phénomène : l'aptitude d'un sérum à hydrolyser son euglobuline. L'idée d'un rapport entre euglobulines et réaction de Henry était née.

Il s'agissait d'y apporter une vérification expérimentale.

a) Le rôle des euglobulines dans le mécanisme de la MR.

La première démonstration du rôle des euglobulines a été donnée, peu après, par Trensz (327). Reprenant les expériences sur la trypanosomiase expérimentale du cobaye et du lapin, Trensz a montré que :

- "le taux de l'euglobuline augmente considérablement au cours de cette affection
- la réaction de Henry et la surfloculation dans l'eau distillée sont d'autant plus intenses que le taux de l'euglobuline du sérum est plus élevé
- les relations entre réaction de Henry et protides du sérum sont moins évidentes en dosant les globulines totales et la sérum-albumine plutôt que les euglobulines."

Il conclut que "le taux de l'euglobuline se révèle donc comme un facteur primordial dans le mécanisme de la réaction de Henry."

De nombreuses études sont venues par la suite confirmer ce rôle des euglobulines.

Chorine et Gillier (49) ont repris les thèses de Gille et de Trensz et tenté de dégager, par une série d'expériences, le rôle des globulines et autres composants du sérum dans le mécanisme de la réaction de Henry.

Tout d'abord ils ont isolé les euglobulines des sérums de lapin et de cheval et les ont ajoutées à un sérum normal. En pratiquant la MR dans l'eau distillée avec le sérum ainsi enrichi, ils ont constaté une précipitation à la fois dans le tube témoin et dans le tube réaction.

En 1933, Chorine et Gillier (50) ont prouvé que, après enrichissement du sérum avec des euglobulines et des pseudo-globulines, seules les euglobulines précipitaient dans l'eau distillée, l'intensité de la floculation étant directement proportionnelle à la quantité d'euglobulines ajoutées au sérum normal. L'addition de lécithine, d'acide urique, de cholestérol à un sérum à taux élevé en euglobulines intensifiait la précipitation dans l'eau distillée ; l'augmentation du taux de cholestérol seul n'influençait pas la réaction. En ajoutant ensemble à un sérum normal plusieurs substances insolubles dans l'eau, ils ont constaté que le degré de positivité total était à peu près égal à la somme des degrés de chacune d'elles prises séparément. En inactivant le sérum à 56°C avant d'y ajouter ces différentes substances, ils ont remarqué que le chauffage empêchait la réaction, le sérum chauffé devenant un solvant plus actif pour tous ces corps précipitables par l'eau.

Chorine et Gillier ont conclu que la positivité de la réaction de Henry était commandée par :

- le taux élevé des substances dissoutes dans le sérum et peu ou pas solubles dans l'eau distillée formolée
- la concentration moléculaire du sang.

La négativation de la réaction serait due, pendant l'accès fébrile, à l'augmentation de la concentration saline, par libération du potassium des hématies détruites au début de l'accès.

Chorine (54, 55) et Prudhomme (248, 249) n'ont plus reconnu à la mélanine qu'un rôle d'indicateur coloré, facilitant la lecture à l'oeil nu. Ces deux auteurs (51, 54) ont alors adapté au diagnostic du paludisme la réaction en eau distillée décrite par Klaussner (176) et par Sia (285).

A la suite de ces travaux, Greig et coll. (in Di Alessandro et Sicari91) ont préconisé l'emploi, comme indicateur coloré, de bleu de méthylène, de phénolsulfonephtaléine, de rouge de méthyle, et Prudhomme (248) celui du carmin ; Wiseman (363), Chorine et Koechlin (53), Naidu et coll. (237) et Zipf (368) ont utilisé des techniques analogues.

Parallèlement aux recherches rappelées ci-dessus, Trensz a étudié le mécanisme de la réaction par une analyse des réactifs et de la technique de Henry, analyse qui souligne les inconvénients cités précédemment et les sources de confusion qui en découlent. Il a ensuite réduit la réaction à sa plus simple expression en préparant une mélanine purifiée à l'état de solution et en remplaçant l'eau distillée et la solution de chlorure de sodium à 3 p. 1000 par un seul excipient : une solution de chlorure d'ammonium à 3 p. 1000 (327).

Avec une technique ainsi simplifiée, le problème du mécanisme change d'aspect ; car la technique de Henry ne permet pas de discerner les actions respectives de la mélanine et de l'eau distillée. Par contre la solution de chlorure d'ammonium à 3 p. 1000, par suite de sa concentration moléculaire relativement élevée, stabilise les euglobulines, qui ne précipitent plus spontanément par suite de l'hypertonie du milieu ; la "surfloculation" est ainsi supprimée, seule demeure la floculation, le chlorure d'ammonium favorisant l'action précipitante de la mélanine. Les deux phénomènes sont bien séparés, et la mélanine intervient activement comme agent précipitant les euglobulines.

En 1938 Chorine (55) a reconnu, en utilisant la technique de Henry et en opérant avec des doses de sérum décroissantes, que "la floculation

est déclenchée par l'addition de mélanine colloïdale."

Pour élucider le problème, toujours présent, de la corrélation entre floculation en eau distillée et réaction de Henry, Trensz, puis Prudhomme, ont publié une expérience démonstrative : Trensz (327) a dissout de la sérum-albumine, des pseudo-globulines, des euglobulines normales et pathologiques, du "surfloculat" de sérum de paludéen obtenu par précipitation du sérum en eau distillée, en quantités croissantes dans de l'eau physiologique à 9 p. 1000 et dans du sérum normal ; il a constaté que seuls les différents échantillons d'euglobulines réagissaient à la mélanine ainsi que le "surfloculat" de sérum de paludéen, qui donnait aussi une floculation en eau distillée. Ce dernier contient donc effectivement les éléments entrant en jeu dans la réaction.

Prudhomme (249) publia quelques semaines plus tard une expérience analogue et constata également que "le floculat en eau distillée contenait toutes les substances actives de la réaction".

Seule l'interprétation des deux auteurs différait. Prudhomme, en opérant avec les techniques de Henry, conclut à l'identité de la floculation et du précipité en eau distillée ; Trensz, au contraire, se basant sur les réactions exécutées avec sa technique et celle de Henry, a conclu que l'eau distillée précipitait, en plus des euglobulines, d'autres composants du sérum étrangers à la réaction de Henry, ce qui lui enlève toute spécificité biochimique. Il a montré que les substances insolubles dans l'eau (euglobulines, acide urique, cholestérol, etc...) ajoutées par Chorine à des sérums normaux, reprécipitent quand on dilue le sérum au 1/10e ; ce fait est dû à l'hypotonie du milieu réactionnel, et se produit aussi bien dans le tube réaction que dans le tube témoin ; la mélanine n'intervient donc pas.

Trensz (327) a considéré les résultats de Chorine comme non concluants, et, dans une nouvelle série d'expériences, a ajouté à un sérum normal des euglobulines extraites d'un sérum de sujet sain et des euglobulines extraites d'un sérum de paludéen. Il a constaté que seule l'addition d'euglobulines extraites de sérum de paludéen donnait des MR positives, aussi bien avec les techniques de Henry qu'avec la sienne.

Donc, à quantités égales, les euglobulines des paludéens ont d'autres propriétés que les euglobulines normales. Cette constatation a apporté dans la compréhension du mécanisme de la réaction un élément nouveau qui était d'ordre qualitatif.

Ce dernier fait a été confirmé par Cerniglia (36) en 1940 et par Di Alessandro et Sicari (91) en 1941.

En répétant l'expérience avec des euglobulines provenant d'affections comme la trypanosomiase, le kala-azar, l'hépatite, Trensz a obtenu des réactions positives, ce qui signifie que ces sérums contiennent des euglobulines "mélano-sensibles" ; les réactions positives dites "aberrantes" sont en réalité des réactions tout-à-fait valables.

Mais qu'il s'agisse d'addition d'euglobulines au sérum ou d'addition d'une solution d'euglobulines à l'eau physiologique, la mélanine ne précipitait qu'une petite fraction des euglobulines mélano-sensibles, sans qu'on ait pu à l'époque préciser sa nature. Il fallut attendre une quinzaine d'années pour avancer dans la compréhension du mécanisme de la réaction.

Plusieurs auteurs ont étudié si certains corps ou si certaines fonctions physico-chimiques avaient une influence sur le déroulement de la réaction. Chorine (54) a analysé le rôle des pseudoglobulines, Le Bourdelles et Velluz (196), Benhamou et Gille (15) et Trensz (327) celui de la sérum-albumine, Chorine et Gillier (50) et Trensz (327) le rôle des lipides, Vilkki (345) celui de la bilirubine, enfin Chorine et Gillier (50) celui de l'hémolyse.

Trensz (317) et Chorine (55) ont étudié l'action du pH, Bruce-Chwatt (29) celle de l'hyperthermie expérimentale.

Tous ces travaux n'ont conduit à aucune conclusion nette.

Après 1945, la découverte et l'application de techniques modernes (électrophorèse, ultracentrifugation analytique, immuno-électrophorèse, immunodiffusion) ont permis de séparer les différents éléments protéiques groupés sous le vocable euglobulines, et de les étudier dans les maladies les plus diverses.

b) Le rôle de l'immunoglobuline M

Parmi ces éléments protéiques, l'immunoglobuline M (ou γ_1M) a suscité de nombreuses études ; les modifications de son taux sont très fréquentes en pathologie, très variables dans leur intensité et intéressent des affections très diverses, rencontrées sous toutes les latitudes.

α) La γ_1M en pathologie tropicale

C'est sans doute dans la trypanosomiase africaine qu'une hausse massive du taux de la γ_1M a été le plus souvent constatée ; de nombreux travaux en témoignent (Charmot 38, Grabar et Burtin 135, Hartmann et coll. 142, Mattern et coll. 220, 221, 223, 224, Nicoli et coll. 240, 241, Charmot et Vargues 43, Macario et Bentz 206, Codja 61, Allechi 7).

Dans la trypanosomiase expérimentale du lapin ou du singe, Mattern et coll. (222), Collomb et coll. (70) ont fait des constatations analogues. Bour et coll. (21) ont trouvé que le taux de la γ_1M était également élevé dans la schistosomiase.

Il en est de même dans le paludisme. En 1958, par la technique d'immuno-électrophorèse, Roubier (259) a observé ce fait chez des impaludés thérapeutiques dès le troisième accès ; le taux va en augmentant au fur et à mesure de la répétition des accès parallèlement à l'hyperglobulinémie. Les travaux de Grabar et Burtin (135), Hartmann et Schneider (143), Roche (258), Mac Gregor et coll. (210, 211, 212), Abele et coll. (1), Tobie (314), ont abouti à des conclusions semblables. A cet égard, la conclusion d'un travail de Hartmann et Schneider (143) est très démonstrative ; ces auteurs ont pratiqué l'immuno-électrophorèse de quatre échantillons de sérum d'un malade impaludé à titre thérapeutique (avant impaludation, avant le 3e accès, avant le 6e et avant le 7e) ; on note très distinctement l'apparition progressive du trait de précipitation antigène-anticorps γ_1M, particulièrement net sur le dernier échantillon. D'après Mac Gregor (in Debray 84) la montée du taux de la γ_1M représenterait la première réaction de défense immunologique ; des courbes ont été établies en fonction des saisons ; ainsi l'hyper-γ_1-macroglobulinémie est plus nette en saison humide qu'en saison sèche. Mais il n'existe pas encore de technique permettant de séparer in vitro anticorps protecteurs et non protecteurs.

Pour Charmot (45) "tout se passe comme si l'IgM était une modalité de réponse immédiatement disponible de la part des cellules immunocompétentes, induite par la parasitémie, et dont la synthèse sera déprimée ultérieurement lorsque le taux des anticorps spécifiques de la classe des IgG aura atteint un niveau suffisant."

Le syndrome splénomégalie-macroglobulinémie, signalé par Albeaux-Fernet et coll. (5), a été décrit par Charmot (38, 40), Charmot et coll. (39, 41, 42, 43), Bergot et coll. (16), et, d'après eux, semblerait entrer dans le cadre des splénomégalies chroniques des régions tropicales. Splénomégalie et dysprotéinémie seraient deux effets de la même

cause. Hartmann et coll. (142) ont signalé un taux augmenté en γ_1M dans les splénomégalies africaines. Sandor et coll. (269), Charmot et coll. (42) et Deu et coll. (89) ont objectivé la macroglobulinémie par ultracentrifugation. Sandor et coll. (269), Charmot (38), Charmot et coll. (39, 41, 42, 44) pensent que ce syndrome peut être une forme clinique de paludisme, qui semble un facteur constant des dysprotéinémies africaines.

D'ailleurs plusieurs travaux ont montré que le taux en γ_1M des populations africaines est nettement supérieur à ceux constatés sous nos climats (Bartfield 12, Deu et coll. 89, Mac Kelvey et Fahey 213, Mac Farlane et Voller 207, Turner et Voller 337). L'étiologie reste bien souvent à découvrir. Toutefois, Gebbie et coll. (129) ont trouvé, dans les cas de splénomégalies avec taux élevé en γ_1M des taux élevés d'anticorps palustres.

Dans la leishmaniose, Charmot et Vargues (43), sur deux cas, n'ont pas noté d'augmentation des IgM.

Dans la lèpre et l'oncocerchose, l'augmentation du taux des IgM serait modérée (Vaucel 342).

β) La γ_1M dans les affections des zones tempérées.

En 1960, Hartmann et coll. (142) ont signalé que le taux de la γ_1M était modérément augmenté dans les hépatites virales et parasitaires, les cirrhoses, d'étiologie connue et inconnue, la sclérose en plaques et la polyarthrite chronique évolutive ; son taux serait nettement augmenté dans la leucémie lymphoïde, le syndrome de Waldenström, la leucémie à plasmocytes, le myélome, certains cancers primitifs et secondaires du foie, la lymphosarcomatose, la mononucléose infectieuse. Trensz et coll. (331) ont fait des constatations analogues. Heid et Basset (145) ont mis en évidence une macroglobulinémie réactionnelle dans deux cas de syphilis, l'une secondo-tertiaire, l'autre nerveuse.

γ) Relations entre γ_1M et MR

En 1955, Schneider et Hartmann (277) ont pensé que la positivité de la réaction de Henry était due à des modifications, non spécifiquement paludéennes, de l'équilibre protidique du sérum des malades, pouvant s'observer aussi bien au cours de maladies hépatiques non palustres qu'au cours de l'hémolyse ; en 1963, Hartmann et coll. (144) ont souligné le rôle important des macroglobulines sur le mécanisme des réactions de floculation telles que les réactions de Mac Lagan, de Ducci et de Hanger.

Plus récemment, Trensz et Raab (330) ont utilisé les mêmes méthodes pour étudier le rôle de la γ_1M dans la réaction de Henry, et ont pratiqué la MR avec des modèles protéiques purs en les ajoutant à un sérum normal, ou en solution de chlorure de sodium. Ces modèles, ajoutés isolément en eau physiologique, ne forment aucun précipité avec la mélanine ; mais si on les incorpore à un sérum biochimiquement normal, on s'aperçoit que seule la γ_1M donne des MR positives d'autant plus fortes que la quantité de macroglobuline ajoutée est plus importante. La liaison entre γ_1M et mélanine nécessite donc la présence d'un autre constituant normalement contenu dans le sérum ; en associant in vitro la γ_1M aux différents constituants du sérum normal, Trensz et Raab ont constaté que l'addition d'immunoglobuline G (ou γG) permettait à la mélanine de produire le complexe floculant caractéristique de la réaction. Turner et Voller (337), à la suite de leurs travaux sur les taux des immunoglobulines dans une population tropicale, pensent également que la positivité de la MR, rencontrée dans le paludisme, mais aussi dans la trypanosomiase, le kala-azar, l'hépatite, est due au rôle déterminant joué par la γ_1M.

3) Etape cellulaire

Après avoir découvert quels éléments se combinaient électivement à la mélanine pour former un précipité, il fallait rechercher sous quelles conditions et dans quelles cellules ils se formaient ; nous avons vu qu'ils appartiennent au groupe des euglobulines, et plus précisément à celui de la $\gamma_1 M$.

Leblanc (192), en 1901, a fait le premier la distinction entre euglobulines et pseudoglobulines. Puis en 1925, Felton (118, 119) a commencé une série d'études très poussées sur l'influence du pH sur la précipitation des euglobulines dans le sérum de chevaux normaux et hyperimmunisés. Il obtint les deux types de globulines de Soerensen, acide et alcaline, et montra que seules les dernières contenaient les anticorps des immunsérums et que leurs propriétés chimiques subissaient des modifications radicales sous l'influence de certains processus d'immunisation.

Plus récemment, Sandor et Skrobisz (265, 266, 267) ont montré que, dans le sérum de l'homme ou du cheval, presque tous les anticorps antibactériens précipitaient dans la fraction sérique insoluble dans l'eau distillée, c'est-à-dire avec les euglobulines. En 1950, Sandor et Weill-Fage (268) ont défini un nouveau test physiopathologique qui consiste à dresser le diagramme de précipitation des euglobulines en fonction du pH et à déduire de cette étude des renseignements utiles au diagnostic et au pronostic des affections ; ils ont appelé cette courbe de précipitation "fiche réticulo-endothéliale ". A peu près en même temps, Boselli (20) avait entrepris une série de travaux dans le même sens.

Dans le cadre du paludisme, Trensz (324), en 1935, a proposé une explication de l'enchaînement successif des faits, depuis l'inoculation de l'hématozoaire jusqu'à l'apparition de la positivité de la MR. Il a rappelé que cette positivité était liée d'abord à une augmentation du taux des euglobulines et ensuite à l'aptitude de ces dernières à floculer au contact

de certains pigments paludéens ; ce sont des euglobulines pathologiques car elles seules se combinent à la mélanine. Cette propriété nouvelle leur serait donnée par les cellules de certains territoires du système réticulo-endothélial et histiocytaire. Cette hypothèse était confirmée par plusieurs faits :

- le système réticulo-endothélial et histiocytaire est presque toujours sollicité dans les diverses maladies où les modifications globuliniques conditionnent la positivité de la MR.
- Trensz a remarqué qu'il y a un certain parallélisme entre l'intensité des troubles humoraux et le degré d'atteinte des cellules réticulo-endothéliales : les modifications du taux des euglobulines sont peu marquées dans les affections non microbiennes intéressant le système réticulo-endothélial et histiocytaire et la MR y est faiblement positive (ictères hémolytiques, leucémies). Par contre certaines maladies virales ou parasitaires (typhus exanthématique, trypanosomiase, spirochétose aviaire, paludisme, kala-azar) s'accompagnent de nettes modifications des euglobulines ; ainsi c'est dans la leishmaniose viscérale, maladie parasitaire spécifique et exclusive des cellules réticulo-endothéliales, que l'on trouve les taux les plus élevés en euglobulines. Dans le paludisme l'euglobulinémie est en général moins intense, mais on peut observer chez certains paludéens réinfectés, avec très forte splénomégalie, des troubles humoraux semblables à ceux observés dans le kala-azar.
- au cours de l'immunisation les cellules du système réticulo-endothélial et histiocytaire sont le siège d'une abondante production d'anticorps ; ceux-ci, dans le sérum, accompagnent la fraction globuline. On peut provoquer une augmentation expérimentale du taux des globulines en agissant directement et d'une manière élective sur les cellules réticulo-endothéliales (Du Bois 98).

Trensz (324) pensait que "... le parasitisme cellulaire et les divers produits phagocytés et assimilés par les cellules réticulo-histiocytaires ne sont pas sans influer sur leurs produits de sécrétion et peuvent en modifier la structure physico-chimique ; c'est pourquoi les euglobulines pathologiques, et en particulier les euglobulines paludéennes, présenteraient certaines altérations physico-chimiques rendant possible la réaction de Henry. Le mécanisme de cette dernière passerait ainsi du domaine purement humoral au domaine cellulaire et deviendrait, en quelque sorte, un test fonctionnel révélant l'activité des cellules réticulo-endothéliales en ce qui concerne la production des euglobulines..." Trensz a considéré comme établi que la réaction de Henry n'avait pas de rapport direct avec la vie du parasite dans l'hématie, le cycle intra-érythrocytaire n'expliquant pas les modifications protéiques entraînant la positivité de la réaction. Il n'y a pas de rapport entre le degré de positivité et le nombre de parasites dans le sang périphérique ; au contraire la réaction est le plus souvent négative au cours des accès (Henry 146, Pozzi 247, De Graaf 87, Schneider et Hartmann 277).

En 1938, Tupa et Ciuca (336) publiaient les résultats d'une étude cyto-morphologique sur les réactions des cellules réticulo-histiocytaires au cours de l'immunogenèse suscitée par une infection à P. knowlesi chez le singe ; ils notaient une participation presque exclusive du système réticulo-endothélial et histiocytaire de la rate, du foie et de la moelle osseuse contrastant avec la carence fonctionnelle du système réticulo-endothélial d'autres organes, tels les ganglions lymphatiques.

C'est au cours du paludisme statique, avec splénomégalie moyenne, où les sujets sont soumis à des réinfections ou surinfections, qu'on a pu le mieux établir des relations entre système réticulo-histiocytaire et réaction de Henry. Sicault et Messerlin (288) ont publié en 1940 les résultats de leurs études, entreprises quelques années auparavant, sur cette forme de paludisme qu'ils ont appelée "réticuloendothéliose palustre".

Ils y distinguent trois phases :

- phase d'hyperfonctionnement du tissu réticulo-endothélial et histiocytaire, chargé de l'élimination des produits de déchet résultant de la destruction des hématies dans les territoires de la moelle, de la rate et du foie. Cette phase, qui correspond à la parasitémie, est caractérisée par une activité phagocytaire intense, suivie d'hyperplasie.
- phase de dysfonctionnement du tissu réticulo-endothélial : c'est ici que la splénomégalie et l'anémie apparaissent, en-dehors de toute parasitémie. Il y aurait déviation de l'activité fonctionnelle histiocytaire avec surcharge de pigment ocre au niveau des cellules de Kupffer.
- phase de déchéance fonctionnelle du système réticulo-endothélial et histiocytaire : après plusieurs années d'évolution il y aurait blocage progressif du système réticulo-endothélial, sclérose par déchéance de la rate et du foie. La fibrose s'étendrait au parenchyme hépatique et la cachexie palustre apparaîtrait alors progressivement.

Le tableau de paludisme statique en pays d'endémie représente essentiellement d'après ces auteurs une réticulo-endothéliose parasitaire avec ses conséquences cytologiques et cliniques.

Il est bien admis actuellement qu'au cours de l'infection palustre se produisent des modifications importantes des éléments mésenchymateux avec prédominance lymphoplasmocytaire. Taliaferro (300, 303, 304), Taliaferro et coll. (301, 302, 305, 306) ont établi sans conteste le rôle des cellules macrophagiques et en particulier des cellules spléniques. Les cellules phagocytaires, surtout présentes dans la pulpe rouge, sont actives

dès le début de l'infection, quand la résistance naturelle intervient seule, et elles englobent mérozoïtes, pigment, hématies parasitées et même hématies normales ; elles deviennent beaucoup plus actives lors de la crise quand l'immunité acquise survient, vraisemblablement par un phénomène d'opsonisation. L'action des macrophages spléniques dans l'immunité est admise par tous (Sergent 280).

Au cours de l'infection palustre, le complexe antigénique du parasite exercerait une action stimulante sur le système cellulaire lympho-macrophagique du système réticulo-endothélial, agissant également sur les cellules mésenchymateuses immunologiquement compétentes des lignées lymphoplasmocytaires et où a lieu la synthèse des protéines anticorps spécifiques. Pour Charmot et Vargues (43) la sollicitation antigénique des cellules susceptibles de synthétiser les macroglobulines pourrait provenir des protéines étrangères. Tupa et Ciuca (335), Ciuca et coll. (57, 60) ont montré qu'un enchaînement fonctionnel des facteurs humoraux et cellulaires caractérise les mécanismes de dégradation de l'antigène malarique ; dans une première phase l'activité phagocytaire des macrophages du système réticulo-endothélial et histiocytaire est prédominante, tandis que dans une seconde phase, évoluant chez les individus en voie d'immunisation, la destruction du parasite est assurée par l'intervention synergique des anticorps synthétisés par la lignée lymphoplasmocytaire et des macrophages, dont l'activité phagocytaire et métabolique reste intense.

Très récemment, Fabiani (114) a réétudié le problème. La prolifération des cellules histiocytaires s'accompagne d'autres modifications histologiques : augmentation du nombre des plasmocytes et réaction des formations lymphoïdes de la pulpe blanche. Au début de l'infection il y a diminution du nombre des lymphocytes et de l'importance des nodules lymphoïdes ; cette diminution persiste dans les infections graves

(Kretschmar et Jerusalem 183, Singer 290), mais, dans les infections curables, est suivie d'une forte hyperplasie des centres germinatifs et d'un repeuplement lymphocytaire (Corradetti et Rigoli 73, Taliaferro et Mulligan 302, Taliaferro 304, Taliaferro et Taliaferro 305). Les réactions cellulaires ne portent donc pas seulement sur les cellules macrophagiques histiocytaires mais aussi sur les autres éléments cellulaires de la pulpe blanche. Taliaferro et coll. (302, 304, 305) ont réuni sous l'expression de système lymphomacrophagique l'ensemble des formations réticulo-endothéliales et lymphoïdes. De plus ces auteurs ont insisté sur le fait que les images de phagocytose, relativement moins nombreuses dans le foie, peuvent ne pas représenter l'importance réelle de cet organe, puisqu'il est beaucoup plus volumineux que la rate. Il a été démontré depuis que d'une manière générale la capacité phagocytaire hépatique est très supérieure à celle de la rate (Nicol et coll. 239) et même que cette différence est très nette lors du paludisme (Fabiani et Orfila 113).

Actuellement, dans un cadre plus général, on peut admettre, avec Sandor et Kawerau (270)que :

a) au stade initial, stade de la phagocytose des antigènes, le rôle du système réticulo-endothélial apparaît primordial, ainsi que l'ont montré les expériences de Gavosto et Fick (128), de Hamashima et coll. (138) : le marquage direct des antigènes par substances radioactives a permis de les retrouver, après injection intraveineuse, presqu ' entièrement dans le système réticulo-endothélial et histiocytaire, et a mis au premier plan le rôle des cellules de Kupffer. Ces travaux ont été confirmés par ceux de Wollensak et Seybold (365).

b) au stade suivant, stade de formation de l'anticorps, il y a vraisemblablement, pour la synthèse, intervention de deux systèmes leucocytaires, les lymphocytes et les plasmocytes, cellules dénuées d'activité

phagocytaire, mais capables de sécréter les immunoglobulines. Les lymphocytes et les plasmocytes prolongeraient en sorte l'action des macrophages.

α) les travaux récents insistent sur le rôle des lymphocytes, à côté de celui des plasmocytes, dans la synthèse des anticorps, que ce rôle soit mis en évidence par l'action des rayons X, des moutardes à l'azote, ou par involution du thymus. La technique de Coons à la fluorescéine a révélé que la majorité des anticorps se trouve dans les plasmocytes, mais qu'une certaine fraction existe aussi dans quelques lymphoblastes et lymphocytes au milieu des follicules. De plus les immunoglobulines gamma correspondantes ont exactement la même distribution que les anticorps dans les cellules (Ortega et Mellors 243).

β) En faveur de l'origine plasmocytaire des globulines, citons les travaux de Bing et Christensen (18), qui ont noté que les affections comportant une nette hausse des globulines (myélome, kala-azar, cirrhose) étaient aussi caractérisées par une augmentation des plasmocytes dans la moelle. Ils ont noté l'ordre chronologique des modifications histologiques et les ont rapportées à la formation d'anticorps. Un tel parallélisme a été aussi noté chez les Noirs africains par Van Oye et coll. (339). Thorell (310) a confirmé la découverte de Downey (96) qui avait mis en évidence une structure sécrétante dans les plasmocytes. Ces cellules sont riches en acide ribonucléique, signe habituel d'une synthèse active en protéines. Mais pour Fagraeus (116) la synthèse des anticorps doit plutôt être attribuée aux plasmocytes immatures, comme en témoignent un appareil nucléolaire très développé et une grande quantité d'acide ribonucléique ; la présence de plasmocytes

mûrs est plutôt le signe que la synthèse en anticorps a déjà eu lieu. White (361) a montré le premier, par la méthode de Coons, la présence d'anticorps dans les plasmocytes.

c) filiation cellulaire : il est difficile d'affirmer une filiation dans la genèse des anticorps. Frühling et coll. (121) ont montré, au microscope électronique, que les plasmocytes proviennent du reticulum des organes lymphoïdes et qu'il existe une structure ergastoplasmique dans les lymphoblastes.

Cette structure est caractéristique de l'épithélium des glandes sécrétantes et se trouve classiquement dans les plasmocytes. Les lymphocytes et les plasmocytes pourraient être deux formes différentes de cellules efficientes au point de vue immunologique. Holub (165), Porter et Cooper (246) ont clairement montré que quelques-uns des petits lymphocytes du canal thoracique étaient changés en plasmocytes par des stimuli immunisants.

Roussy et coll. (260) ne font pas de différence entre macrophage et cellule-souche et pensent que cette dernière, qui a capté l'antigène par phagocytose, peut se différencier en lymphocyte ou en plasmocyte, capables l'un et l'autre de sécréter des anticorps. Cette différenciation serait directement en rapport avec les stimuli antigéniques que les cellules-souches reçoivent. Il faudrait alors admettre que les gammaglobulines normales sont synthétisées en réponse à des stimuli antigéniques, car on les trouve dans les mêmes types de cellules que celles qui produisent les anticorps. Ehrich (109) admet que les macrophages, les lymphocytes et les plasmocytes sont des cellules indépendantes les unes des autres ; le lymphocyte jouerait le rôle d'un co-facteur indispensable à l'activité de synthèse du plasmocyte.

Pour Dixon (94) la synthèse des anticorps commencerait dans le réticulocyte qui acquérerait un phénotype nouveau ; certaines globulines pathologiques semblent être synthétisées par les lymphocytes (maladie de Waldenström), d'autres par les plasmocytes (myélome).

Il semble donc actuellement admis qu'au sein du système réticulo-endothélial et histiocytaire les populations lymphoplasmocytaires sont responsables de l'élaboration des immunoglobulines IgG et IgM. Certains auteurs pensent que celles-ci sont formées par des groupes cellulaires différents qui se spécialiseraient pour sécréter telle ou telle globuline ; d'autres pensent que les mêmes cellules peuvent, selon les circonstances, sécréter des IgG ou des IgM. A ce sujet la récente thèse de Mme Buffe (31) apporte des conclusions intéressantes. A l'aide des techniques d'immunofluorescence, l'auteur a étudié l'origine cellulaire des immunoglobulines (γA, γG, γM) et les a toujours trouvées séparément dans des cellules morphologiquement identiques : cellules jeunes lymphoplasmocytaires, plasmocytes typiques, plus rarement lymphocytes. Il a été aussi constaté que les chaînes légères et lourdes d'une même immunoglobuline sont formées dans une même cellule (existence de deux populations de granulations cytoplasmiques ou nucléaires à spécialisation compétente ?). Les résultats obtenus chez le foetus et le jeune enfant montrent une plus grande fréquence de cellules à γ_1M qu'à γG, contrairement à l'adulte. Ces résultats sont en accord avec l'apparition plus précoce des anticorps γ_1M dans le développement des réactions immunitaires. Cette étude confirme les résultats obtenus par Zucker-Franklin et coll. (369), Solomon et coll. (291), Mellors et Korngold (230) et Van Furth (338).

En conclusion, si l'on admet que la synthèse des anticorps peut se faire en dehors des tissus réticulo-endothéliaux différenciés au sein des organes lymphohématopoïétiques et du foie, tous les expérimentateurs s'accordent à reconnaître le rôle de la triade macrophage-lymphocyte-plasmocyte. L'origine réticulo-endothéliale est certaine pour les immunoglobulines gamma et probable pour toutes les protéines sériques. Qu'il s'agisse d'hépatite virale ou de paludisme, et en se basant sur le fait que la MR se négative parallèlement à la guérison de l'affection, nous pensons que la positivité de la MR est étroitement liée à la stimulation du système réticulo-endothélial et histiocytaire, tant que l'organisme héberge des virus ou des parasites ; la demi-vie des IgM est courte et il n'y aurait hyperproduction de ces globulines qu'en cas de stimulation active des cellules productrices.

On pourrait établir le schéma suivant : agent pathogène ⟶ hyperactivité du système histiocytaire ⟶ hypersécrétion d'immunoglobulines ⟶ positivation de la MR.

V. - Résumé de l'historique

Il faut retenir que l'étude des réactions sérologiques relatives au paludisme, commencées à la fin du siècle dernier, se poursuit encore.

Parmi tout un ensemble de techniques variées, la réaction de Henry, publiée il y a quarante ans et reposant sur une conception originale, a prouvé tout d'abord son utilité dans le diagnostic de la malaria. Mais son manque de spécificité en a vite restreint l'emploi.

Pourtant, en même temps que la réaction se trouvait perfectionnée et simplifiée, l'explication de son mécanisme passait par différents stades.

Après avoir infirmé la conception immunologique de Henry, différents auteurs insistèrent sur le rôle des troubles protéiques dans la positivité de la réaction. Des techniques récentes et perfectionnées, conçues pour l'étude des protéines du sérum, permirent d'expliquer la floculation par la formation d'un complexe insoluble mélanine-globuline. Ce complexe se forme, dans les conditions de la réaction, grâce à la présence simultanée de globulines γ_1M et de globulines γG ; la quantité de précipité est proportionnelle au taux des γ_1M.

Enfin le lien a été établi entre l'hyperactivité du système histiocytaire (secondaire à une atteinte virale ou parasitaire, par exemple), l'hypersécrétion d'immunoglobulines et la positivation de la MR.

TRAVAIL PERSONNEL

I. - Mises au point techniques

1) Technique utilisée pour la pratique de la mélanoréaction

Nous avons renoncé au réactif de Henry car il présente plusieurs inconvénients : du fait de sa teneur en substances putrescibles (pigment et corps vitré), la mélanine choroïdienne de Henry ne se conserve qu'en glacière et pendant un temps limité. Les grains de pigment sédimentent et s'agglomèrent dans le liquide de suspension, le titre du réactif subissant alors de légères modifications ; pour maintenir la suspension homogène, il faut agiter souvent le flacon de réactif. Par ailleurs Henry y avait incorporé du corps vitré et du formol qui facilitent la lecture à l'oeil nu, mais diminuent la densité optique mesurée au photomètre ; le réactif est trop instable pour pouvoir être utilisé rationnellement. Enfin, l'exécution de la réaction, nécessitant deux diluants différents, est trop compliquée.

Greig et coll. (136) ont obtenu une mélanine solubilisée par hydrolyse, en milieu chlorhydrique, de cheveux humains noirs. Villain et Dupoux (346) ont préparé une mélanine solubilisée synthétique par oxydation de la tyrosine à l'aide du perchlorure de fer et de l'eau oxygénée. La qualité de ces deux réactifs est comparable à celle obtenue par Henry.

Nous avons adopté la mélanine extraite de l'oeil de boeuf et solubilisée selon le procédé de Trensz, qui est le procédé le plus simple et qui donne un réactif stable pouvant être standardisé. Son principe d'obtention est le suivant : le pigment choroïdien est insoluble dans l'eau et en milieu acide ; il se dissout au contraire dans les bases fortes (Trensz 323). En le soumettant à des dissolutions répétées en milieu alcalin, suivies de précipitations par acidification, il devient entièrement soluble dans l'eau dès la troisième dissolution, tout en demeurant aussi actif que dans son état initial. Cette solution

du pigment se prête à la lecture à l'oeil nu et, mieux que la mélanine non traitée, à la mesure photométrique, car les liquides restent parfaitement limpides : le réactif dilué présente une teinte brun-jaune assez accentuée mais absolument transparente ; le trouble le plus minime devient aisément décelable et la lecture s'en trouve considérablement améliorée. La qualité du réactif est comparable d'un lot à l'autre ; il est stable et se conserve trois à quatre ans. A ce sujet nous avons fait l'expérience suivante : nous avions constaté que plusieurs flacons de mélanine, conservés à + 4°C, présentaient au bout de trois mois un précipité. Après avoir éliminé ce dernier, un flacon a été replacé à + 4°C, un autre à température ambiante. Après trois mois ce dernier ne présentait aucun précipité, tandis qu'il s'en était formé un dans le flacon conservé au frigidaire ; le précipité s'est redissout spontanément, à la température du laboratoire, au bout de quelques semaines. Il est donc conseillé de maintenir la mélanine à température ambiante pour que son titre ne varie pas.

L'excipient choisi est une solution de chlorure d'ammonium pour analyses, à raison de trois grammes par litre d'eau distillée ; la solution ainsi préparée se conserve à + 4°C et est utilisable aussi longtemps qu'elle reste limpide.

La solution finale destinée à être mélangée au sérum frais se prépare en diluant un volume de mélanine dans neuf volumes de la solution de chlorure d'ammonium ; la réaction se fait ainsi en milieu légèrement tamponné, et le pH final, plus stable et mieux déterminée que par la technique de Henry, se fixe entre 7, 75 et 7, 85 (Trensz et Raab 330).

Suivant le volume de sérum et de réactif dont on dispose, la mélanoréaction peut se faire dans un tube à hémolyse, les volumes de sérum frais et de réactif en présence étant respectivement de 0, 25 ml et de 1, 00 ml. Après avoir bouché le tube, on mélange bien sérum et réactif en le retournant plusieurs fois, et on le place pendant deux heures à l'étuve à + 37°C.

La lecture des résultats se fait à l'oeil nu et est analogue à celle de la réaction de Hanger :

- le contenu du tube présente un léger trouble uniforme sans aucun dépôt : réaction négative

- léger dépôt avec surnageant trouble : réaction légèrement positive ou +

- net dépôt avec surnageant légèrement trouble : réaction nettement positive ou ++

- dépôt massif avec surnageant clair : réaction fortement positive ou +++

Dans un travail préalable nous avons adapté un matériel spécial, étudié pour les grandes séries, à la MR. Nous avons aussi vérifié certains détails se rapportant à la réaction.

2) Matériel choisi

La technique originale pour examen individuel est difficilement réalisable en grande série. Quelques auteurs qui ont appliqué la réaction de Henry à l'étude épidémiologique du paludisme n'ont pas utilisé un matériel spécialement conçu pour ce travail. Trensz, en 1932 (319), dans un village d'Algérie en zone d'endémie, prélevait le sang par ventouse scarifiée et utilisait le matériel ordinaire. Henry (152, 157, 162) avait mis au point en 1936 une microméthode avec utilisation de pipettes Pasteur. Sicault (286) a utilisé la microméthode de Henry pour faire une étude épidémiologique au Maroc, mais en se servant de la technique de Villain (mélanine artificielle obtenue par oxydation de la tyrosine), sans étuve. Aucune de ces techniques n'a donné satisfaction.

Pour faire une étude statistique sur un grand nombre de sérums nous avons adopté la technique du docteur Suchet (295, 296). Comme en macrométhode la dilution de la mélanine par le chlorure d'ammonium se fait

au même taux, les volumes de sérum et de réactif en présence sont en proportions identiques. La différence réside dans le mode de prélèvement du sang, dans la quantité de sérum nécessaire, dans le mode de répartition du réactif. Le docteur Suchet préconise, pour les travaux sur des grands nombres, la prise de sang à la pulpe du doigt, un millilitre suffisant pour les réactions courantes ; nous avons dû pratiquer le plus souvent des ponctions veineuses, les analyses faites parallèlement à la MR exigeant une quantité de sang bien supérieure. Si l'on s'en tient à la seule MR, on recueille quelques gouttes de sang au doigt à l'aide d'une lancette porte-vaccinostyle avec vaccinostyle individuel stérile ; le sang s'écoule dans un tube, d'une contenance de un millilitre, reposant sur un portoir numéroté ; après formation du caillot, on décolle ce dernier des parois du tube et, après quelques heures, le sérum surnageant est facilement aspiré grâce à des pipettes spéciales à embout métallique calibré. On introduit douze gouttes de sérum, soit 0,20 ml,par tube. Le réactif est rapidement réparti grâce à une seringue distributrice, identique au rhéomètre de Vernes, à raison de 0,80 ml par tube.

Nous avons, sur 100 sérums, à MR positive et à MR négative, pratiqué parallèlement la macrométhode et la semi-microméthode. Quand la MR est positive, le précipité est aussi net et aussi visible quelle que soit la technique utilisée, et quelle que soit l'affection en cause : hépatite, cirrhose, dysprotéinémie, paludisme, etc... Pour la suite de nos travaux, nous n'avons employé que la semi-microméthode, simple et rapide.

3) Température optimum pour la réaction.

Il était intéressant de savoir si la MR pouvait se dérouler à des températures ne nécessitant pas un appareillage spécial. C'est pourquoi nous avons fait la réaction à trois températures différentes : 4°C, 20°C et 37°C qui représentent respectivement celles d'un frigidaire, d'une salle de

laboratoire sous nos climats et d'une étuve ; la lecture a été faite deux heures, quatre heures et six heures après le début de la réaction. Nous avons ainsi testé 23 sérums, cinq restèrent négatifs, quels qu'aient été la température à laquelle s'était déroulée la réaction et le laps de temps écoulé. Une positivité d'intensité moyenne se manifeste très nettement et très rapidement à la température de 37°C. C'est à 4°C que le précipité se forme le plus lentement. A 20°C la vitesse de formation du floculat est intermédiaire à celle observée aux deux températures extrêmes. Au bout de six heures le résultat a été pratiquement le même pour tous les tubes aux différentes températures. Dans les cas d'hépatite au stade floride ou de cirrhose avérée, quand le taux des IgM est nettement élevé, le floculat se forme très vite : quand le sérum et le réactif sont mélangés, un trouble diffus apparaît presque instantanément ; des flocons se forment au sein du milieu réactionnel et sédimentent pour former un précipité au fond du tube, un quart d'heure parfois après le début de la réaction.

L'élévation de la température accèlère la vitesse de formation du précipité : deux heures à 37°C, ou quatre heures à température ambiante, suffisent pour constater la positivité de la réaction et détecter ainsi une hausse déjà nette du taux des IgM.

4) Le problème des sérums inactivés

Nous avons voulu nous rendre compte si l'inactivation du sérum permettait de distinguer les "vraies réactions" des "fausses". Henry a beaucoup insisté sur ce point et a prétendu que seuls les sérums paludéens, s'ils sont inactivés, ne floculent plus sous l'action de la mélanine ; c'est ce qu'il appelle une "vraie réaction". Un sérum d'hépatite ou de dysprotéinémie, après inactivation, donnerait d'après cet auteur une MR positive, c'est alors une "fausse réaction".

Nous avons repris 45 sérums à MR positive et refait la réaction suivant l'ancienne technique de Henry, modifiée par Trensz : après inactivation du sérum, nous n'avons jamais observé de floculation. Nous nous trouvons donc dans les conditions posées par Henry, et nos réactions peuvent être qualifiées de "vraies" au sens où l'entend cet auteur. Trensz et Raab (330) ont montré que l'inactivation enlève à la γ_1M la propriété de former avec la γG un complexe réagissant avec la mélanine. Le chauffage du sérum à 56°C ne joue nullement en faveur d'une spécificité paludéenne, comme le soutient Henry. Le tube témoin, contenant du sérum frais et du chlorure d'ammonium, n'est utile que pour les lectures photométriques, son chiffre d'opacité propre devant être retranché de celui donné par le tube réaction, qui contient le sérum et le réactif. Comme en semi-microméthode nous pratiquons uniquement la lecture à l'oeil nu, nous avons toujours utilisé un seul tube par sérum étudié.

5) Le problème de l'utilisation d'un liquide conservateur.

Pour pouvoir pratiquer la réaction plusieurs jours après la ponction sanguine, effectuer éventuellement un transport à longue distance, nous avons éprouvé un liquide conservateur et anticoagulant, permettant de conserver le sérum quinze jours sans qu'une altération apparaisse, et mis au point par le docteur Suchet*. Chez 250 personnes nous avons pratiqué parallèlement la réaction sur plasma, en recueillant le sang sur liquide anticoagulant, et sur sérum. Sur sérum la MR a été positive dans 22 cas ; mais sur le plasma se rapportant à ce nombre la MR a été positive dans 18 cas seulement. La différence est assez sensible pour que nous ayons renoncé à pratiquer la réaction sur plasma.

---

* En voici la formule

Sulfate d'oxyquinoléine		0,08 g.
Ethyl-mercuri-thiosalicylate sodique		0,005 g.
Sulfanilamide		0,1 g.
Citrate trisodique		3,0 g.
Eau distillée	q.s.p.	100 ml

6) Comparaison de la MR avec les réactions de Sia et de Chorine.

Peu après la publication de la réaction de Henry, certains auteurs, reprenant les constatations de Klaussner (176) sur des sérums syphilitiques et de Sia (285) sur des sérums de kala-azar, remarquèrent que certains sérums de malades paludéens floculaient aussi sous l'action de l'eau distillée, par la seule influence hypotonique du milieu réactionnel. L'eau distillée, après un certain temps de contact avec l'air, a un pH oscillant autour de 5, 5 ; il suffit de mettre une goutte (0, 05 ml) de sérum dans 5 ml d'eau distillée pour que le pH arrive à 7, 8 ou 7, 6, zone de précipitation des euglobulines basiques. Pour substituer ce test à l'eau distillée à la réaction de Henry, diverses variantes furent proposées par Chorine et Prudhomme (51), Le Bourdelles et Mauvais (189), Wolff (364), Greig (137) et Prudhomme (248).

La technique la plus répandue est celle de Chorine et Prudhomme (51) ; elle comporte une dilution du sérum au 1/10e en eau distillée, avec lecture immédiate au photomètre ; le tube est placé pendant trois heures à l'étuve à 37°C, puis pendant vingt minutes à température ambiante ; on pratique alors une seconde lecture photométrique. La différence entre les deux chiffres donne l'intensité de la floculation ; de 10 à 20 degrés Vernes, il y aurait suspicion de paludisme, de 20 à 100 degrés Vernes, les sérums examinés appartiennent généralement à un sujet paludéen, de 250 à 350 degrés Vernes, on doit évoquer le diagnostic de kala-azar. Nous avons soumis au test de Sia et à la réaction de Chorine 78 sérums à MR positive : nous avons constaté que le test de Sia était positif sur 21 sérums, et la réaction de Chorine positive sur 43 sérums. La même expérience, répétée sur 37 sérums à MR négative, a montré une concordance étroite entre les trois réactions : 36 sérums avaient un test de Sia négatif et 35 une réaction de Chorine négative. Ces constatations rejoignent celles de Thillard (308), de Mannoni (217), de Weil et coll. (359), de Henry (160), de Meersseman et Lafuma (229), d'Eysseric (110, d'Eysseric et coll. (111).

Les discordances entre MR et tests à l'eau distillée ont été expliquées par les recherches de Trensz et Raab (330) : la MR, en milieu salin au chlorure d'ammonium, est une réaction de floculation faisant précipiter électivement la γ_1M dès qu'elle dépasse le taux sérique normal, alors que l'eau distillée ne la fait précipiter qu'à un taux très supérieur, en association avec d'autres protéines, en particulier les lipoprotéines. Trensz (327) a montré que le précipité en eau distillée contient effectivement les éléments entrant en jeu dans la MR et qu'on peut, en partant de ce précipité remis en solution, obtenir des MR positives ; ce fait fut confirmé par Prudhomme (249).

Nous espérons ainsi avoir fait une mise au point définitive de la prétendue identité entre la MR et les tests de floculation en eau distillée, et avoir mis fin à l'opinion si répandue que ceux-ci remplaçaient avantageusement celle-là.

II. - Etude de la MR sur des sérums non paludéens

La spécificité de la réaction de Henry ayant été souvent mise en doute, il nous a paru important de reprendre le problème et d'étudier justement la MR en zone indemne de paludisme, pour éviter sûrement de rencontrer des infections paludéennes larvées : d'abord sur un groupe de sujets supposés sains, puis sur une autre fraction de population qu'on pourrait qualifier de semi-hospitalière, enfin dans trois affections rencontrées sous nos climats, et caractérisées par une nette hausse de la γ_1M. Cette immunoglobuline jouant un rôle fondamental dans la réaction, nous avons vérifié si le taux de positivité était élevé dans les affections en cause.

1) Le groupe de sujets supposés sains est formé par des donneurs du Centre de Transfusion sanguine de Strasbourg. La MR a été pratiquée sur 3 052 sérums de ce Centre, que nous avons classés en deux séries :

a) La première comprend 2 476 sérums. La MR a été positive sur 50 d'entre eux, soit un pourcentage de positivité de 2,02 p. 100. Un bilan protéique complet pratiqué sur ces 50 sérums a révélé que 20 sérums présentaient des réactions de Hanger et de Mac Lagan positives, 23 sérums un test de Hanger positif, 6 sérums une réaction de Mac Lagan positive et qu'un seul sérum avait ces deux tests hépatiques normaux.

Nous avons fait, sur ces 50 sérums, 46 électrophorèses : les gammaglobulines n'ont accusé une hausse sensible que dans 21 cas. La courbe de solubilité des euglobulines selon Sandor et Vargues, faite sur 39 sérums, révèle une hausse de ces dernières sur 11 d'entre eux, cette hausse porte surtout sur les fractions à pH 6,0 - 6,6 et 7,2. Le reste du protéinogramme est normal.

Nous retenons que les sérums à MR positive présentent toujours une perturbation du bilan protéique ; de plus, la corrélation est constante entre MR et tests de floculation du foie, mais il est impossible de dire, après cette première série d'expériences, si la positivité des tests entraîne celle de la MR ou si la positivité de l'une comme des autres relève d'une même cause.

b) La question posée ci-dessus a une certaine importance aux points de vue théorique et pratique ; dans une seconde série comprenant 576 sérums du Centre de Transfusion, nous avons donc, sur chacun, effectué MR et tests de floculation du foie ; 158 sérums présentaient un test de Hanger positif, soit 27 p. 100 ; 5 sérums avaient une réaction de Mac Lagan isolément positive, soit 1 p. 100, et enfin 18 sérums présentaient les deux tests de floculation simultanément positifs, soit 3 p. 100. Il apparait que dans ce lot un tiers environ des donneurs de sang présente des tests hépatiques plus ou moins perturbés ; la MR s'est révélée positive 13 fois, soit 2,25 p. 100, donc du même ordre de grandeur que dans la première série (2,02 p. 100).

Une enquête qui, comme celle que nous avons entreprise, se base sur l'utilisation et la comparaison de nombreuses valeurs quantitatives, ne saurait se concevoir sans un traitement statistique adéquat. Le premier but de ce traitement est d'écarter ceux des résultats où la différence constatée entre deux ou plusieurs groupes de valeurs semble davantage due au hasard qu'aux différences propres entre ces groupes de valeurs ; une telle différence est dite statistiquement "non significative". Au contraire la différence entre deux ou plusieurs groupes de valeurs est dite "significative" si elle n'a que très peu de chances d'être due au hasard, et due vraisemblablement aux différences propres qui existent entre ces groupes de valeurs. Il existe en fait plusieurs degrés de signification d'une telle différence. Si la part possible du hasard est comprise entre 5 p. 100 et 1 p. 100 (c.à.d. : s'il y a moins de 5 p. 100 et plus de 1 p. 100 de chances que la différence observée soit due au hasard), la différence est dite "significative" ; entre 1 p. 100 et 1 p. 1 000 elle est "très significative" ; à moins de 1 p. 1 000 elle est "hautement significative". Dans notre travail nous avons trouvé des différences à ce point importantes que nous nous sommes permis d'utiliser un terme "très hautement significatif".

Le type même de notre enquête, basée sur des différences de proportions entre données qualitatives, nous a conduit à utiliser le plus souvent la méthode des χ^2 ; elle consiste à comparer des nombres effectivement observés dans chaque classe de valeurs aux nombres théoriques calculés pour ces classes d'après l'hypothèse suivante : nous retenons l'hypothèse nulle admettant que le nombre de sérums à MR positive ne diffère pas suivant la valeur comparée (par exemple un test hépatique) positive ou négative. Ainsi dans la comparaison Mac Lagan -MR effectuée sur les 576 sérums de la seconde série du Centre de Transfusion, il y a 23, 3 p. 100 de MR positives chez les sérums à Mac Lagan positif, et 1, 1 p. 100 de MR positives seulement chez les sérums à Mac Lagan négatif. Le test χ^2 entre ces proportions mon-

tre une différence hautement significative ; on peut en conclure qu'un Mac Lagan positif a de bien plus fortes chances de s'accompagner d'une MR positive qu'un Mac Lagan négatif.

Les calculs statistiques mettent bien en lumière les conclusions énoncées ci-dessus ; sur ces 576 sérums, la corrélation est hautement significative entre la réaction de Mac Lagan et la MR ; pour le test de Hanger, la différence est très significative. Le parallélisme est donc plus étroit entre MR et réaction de Mac Lagan. La MR se montre plus sélective que les deux tests hépatiques. Quand les troubles protéiques qui rendent positifs les tests de floculation du foie atteignent une certaine intensité, ils entraînent la positivité de la MR ; on peut dire aussi que les troubles protéiques qui rendent la MR positive sont généralement d'un degré tel qu'automatiquement les tests de Hanger ou de Mac Lagan sont positifs. Une MR positive révèle toujours l'existence d'un trouble protéique ; elle est beaucoup plus significative d'une "hépatite maladie" que le test de Hanger qui, s'il est faiblement positif, révèle essentiellement la petite insuffisance hépatique chez un grand nombre de donneurs de sang, ou la "cicatrice humorale" d'hépatites. Il n'y a aucun parallélisme entre deux réactions donnant respectivement des taux de 2 p. 100 et de 30 p. 100 de positivité. En effet, la MR étant presque toujours positive dans l'hépatite virale, le taux de positivité de 2 p. 100 que nous avons trouvé chez les donneurs est peut-être lié à des hépatites virales anictériques, ou à certaines hépatites infracliniques, ou à leurs suites humorales.

2) La MR et quelques analyses biologiques courantes.

Nous avons pratiqué la MR sur 831 sérums provenant de sujets pour lesquels différents examens courants étaient demandés : urée, glycémie, cholestérol, acide urique, bilirubine. Les résultats, dépouillés par IBM France, font apparaître les données statistiques suivantes : il n'y a pas de corrélation entre une MR positive et des taux pathologiques d'urée, de

glycémie (et les deux ensemble),de cholestérol, d'acide urique. Par contre la corrélation est déjà significative entre MR positive et hyperbilirubinémie ; cette corrélation n'est pas due à la bilirubine mais à la défaillance hépatique dont elle est le reflet, nos cas d'hyperbilirubinémie concernant surtout des hépatites virales.

3) La MR et le bilan protéique

On sait que seules certaines protéines sériques entrent en jeu pour rendre une MR positive (Trensz et Raab 330). Pour en préciser les fractions nous avons effectué une MR sur 1 000 sérums pris au hasard dans le laboratoire d'analyses du docteur Trensz et concernant des malades hospitalisés ou ambulants, ou des sujets suspects d'affections diverses. Un protéinogramme avait été demandé pour chacun : 300 protéinogrammes étaient normaux, beaucoup d'autres ne présentaient que des perturbations protéiques mineures ; enfin, dans un dernier groupe, les troubles étaient du type de ceux observés au cours d'une cirrhose, d'une hépatite, d'un cancer à un stade avancé, ou d'un état infectieux ou inflammatoire net. Les calculs statistiques ont été faits pour comparer les résultats des MR aux principaux éléments qui nous intéressent ; nous donnons le pourcentage des MR positives pour chaque type de réaction et les résultats statistiques.

a) Les tests hépatiques

Taux des MR positives pour les deux tests de floculation hépatiques.

	Proportion de sujets à test positif et ayant une MR positive	Proportion de sujets à test négatif et ayant une MR positive
Test de Hanger	57,2 p. 100	1,5 p. 100
Test de Mac Lagan	78,2 p. 100	2,8 p. 100

La corrélation est très hautement significative pour les deux tests. Quand les tests hépatiques sont négatifs, la MR est négative dans 99,4 p. 100 des cas. Quand ils sont tous deux positifs, elle est positive dans 84,5 p. 100 des cas. Il faut séparer le test de Hanger et la réaction de Mac Lagan, car il y a une "potentialisation" pouvant entraîner la positivation de la MR. La conclusion est semblable à celle observée pour les sérums du Centre de Transfusion.

b) Les gamma-globulines

La corrélation est également hautement significative : la MR est positive dans 30,6 p. 100 des cas où les gammaglobulines sont élevées, 3,5 p. 100 seulement des cas où elles sont normales. Il est à noter que dans les cas où simultanément les tests hépatiques sont positifs et le taux des euglobulines élevé, la corrélation est plus étroite ; ceci s'explique par le fait que dans ces cas la hausse des IgG s'accompagne souvent de celle des IgM.

c) Les euglobulines (courbes de solubilité selon Sandor et Vargues)

Taux des MR positives pour les 4 types d'euglobulines

	Proportion de sujets à taux d'euglobulines augmenté et ayant une MR positive	Proportion de sujets à taux d'euglobulines normal et ayant une MR positive
pH 5,0	6,0 p. 100	11,2 p. 100
pH 6,0	44,5 p. 100	6,2 p. 100
pH 6,6	48,0 p. 100	3,5 p. 100
pH 7,2	80,9 p. 100	5,2 p. 100

Nous avons d'abord remarqué qu'il n'existe pas de hausse isolée des euglobulines à pH_i 7, 2, et ensuite qu'il n'existe pas de hausse simultanée des euglobulines à pH_i 6, 6 et 7, 2 sans que les tests hépatiques soient positifs.

La hausse de l'euglobuline à pH_i 5, 0 du groupe α s'accompagne d'une MR négative (dans 96, 7 p. 100 des cas, soit une corrélation très significative) ; par contre, la hausse des autres euglobulines s'accompagne d'une MR positive (corrélation très hautement significative pour les trois euglobulines). La hausse du taux de l'euglobuline à pH_i 6, 0 ne semble pas avoir de rapport avec la MR.

Enfin signalons que la MR est négative chez le sujet biochimiquement sain ; nous n'avons constaté aucune positivité sur 300 sérums dont les protéinogrammes étaient normaux.

En conclusion, l'étude statistique faite par IBM montre que la MR dépiste rapidement des troubles protéiques : quand, simultanément le taux global des gammaglobulines, celui des euglobulines à pH_i 6, 6 et 7, 2, les tests hépatiques, sont normaux, la MR est négative dans 99, 9 p. 100 des cas. Si les taux ci-dessus sont augmentés simultanément, elle est positive dans 92 p. 100 des cas.

4) La MR et les sérums d'hépatites virales

Nous avons repris l'étude de l'hépatite virale et, lors d'une petite épidémie survenue en 1965 dans les départements de l'Est, nous avons pu rassembler 176 cas, avec ictère, diagnostiqués par les symptômes cliniques, les données épidémiologiques, et confirmés par les résultats des analyses biologiques. Sur ce nombre, la MR s'est révélée positive, pendant la période de floride, dans 169 cas ; le pourcentage global de positivité s'établit ainsi,

en pleine phase ictérique, à 96 p. 100 (ce taux rejoint celui constaté dans le paludisme). La positivité de la MR s'est manifestée dès le début de la phase ictérique, parallèlement à celle des tests hépatiques, tout comme dans l'hépatite palustre.

Nous avons pratiqué 365 bilans protéiques, se rapportant au total des 176 cas ; en phase floride, la MR et les tests de floculation étaient positifs, la transaminasémie était élevée, le taux en gammaglobulines était augmenté ; la courbe de solubilité des euglobulines selon Sandor et Vargues a révélé une forte à très forte hausse de ces dernières portant surtout sur les fractions à pH_i 6,0 , 6,6 et 7,2.

L'évolution de la MR, du protéinogramme et des tests de floculation du foie a été étudiée sur 31 malades présentant un syndrome biochimique caractéristique de cette affection ; nous avons pu ainsi constater le délai nécessaire à la négativation de la réaction et vérifier si cette dernière suivait fidèlement celle des tests hépatiques. En fait, les courbes établies ont montré un étroit parallélisme, ce qui confirme les constatations de Vilkki (345).

Sur 31 malades, 24, deux mois après le début de leur affection, avaient une MR négative, et 19 d'entre eux des tests hépatiques négatifs. Quatre mois après le début de l'hépatite, le nombre de malades à MR négative s'élevait à 29, et tous avaient des tests hépatiques négatifs. Enfin la MR et les tests hépatiques se sont négativés au bout de six mois chez un autre malade, et au bout de onze mois chez le dernier. Il faut ajouter que certains autres sujets n'ont pas pu être suivis jusqu'à la fin de leur maladie ; mais, plusieurs mois après le début de l'hépatite, la MR et les tests hépatiques étaient encore nettement positifs.

D'après nos résultats, en accord avec ceux de Vilkki, nous retiendrons que :

- la MR est aussi régulièrement positive dans l'hépatite virale que dans le paludisme
- dans ces affections, sa positivité est en rapport étroit avec les lésions hépatiques
- la MR et les tests hépatiques peuvent demeurer positifs plusieurs semaines, voire plusieurs mois, après le début de l'hépatite
- le délai ordinaire de négativation de la MR varie beaucoup d'un malade à l'autre, entre trois semaines et un an ; ces constatations peuvent expliquer que les 2 % de MR positives chez les donneurs de sang se rapportent à des hépatites virales, de date plus ou moins récente, même anictériques et cliniquement muettes.

- chez nos malades la MR s'est négativée plus vite que les tests hépatiques ; c'est le test de Hanger qui reste le plus longtemps positif.

Parmi les sérums d'hépatite virale, nous en avons choisi 2 à MR positive, sur lesquels nous avons pratiqué une immuno-électrophorèse : les 2 sérums à MR négative présentaient une hausse des gammaglobulines totales mais un taux normal en γ_1M (avec l'antisérum Behring), et un taux normal également en γ_1A. Quant aux 2 sérums à MR positive, l'un présentait une hausse des γ_1M (avec taux normal en γ_1A), l'autre une hausse des γ_1M également et un taux normal en gammaglobulines totales.

5) La MR et les sérums de cirrhoses à syndrome biochimique caractéristique.

Nous avons collationné 37 sérums à syndrome biochimique de la cirrhose, d'après les résultats du bilan protéique. Les renseignements que

nous avons pu obtenir des médecins traitants ont établi qu'il s'agissait de cirrhoses éthyliques dans la majorité des cas.

Dans 36 cas sur 37, le taux de sérum-albumine était nettement abaissé. Tous les sérums présentaient un taux de gammaglobulines élevé (sur 37 sérums, 25 présentaient une fusion des β et γ globulines à l'électrophorèse, ceci étant un témoin de la forte hausse des composants lourds des protéines sériques IgM) ; 33 sérums sur 37, présentaient un taux augmenté en euglobulines 6,0 - 6,6 et 7,2, et le test de Hanger était, dans tous les cas sauf un, nettement positif. 32 sérums présentaient une MR positive. Il est à souligner que les 5 sérums à MR négative présentaient en même temps une réaction de Mac Lagan normale, tandis que celle-ci était très nettement positive pour 31 autres sérums. Il parait donc y avoir, dans la cirrhose à syndrome biochimique caractéristique, une très étroite corrélation entre ces deux réactions, ceci sur des sérums où les fractions protéiques sont profondément modifiées.

Nous avons pratiqué une immuno-électrophorèse chez six malades atteints de cirrhose alcoolique ; chez quatre d'entre eux l'arc des IgM révélait un taux double du taux normal, et chez les deux derniers un taux quatre fois supérieur au taux normal moyen.

6) La MR et les dysprotéinémies

On sait que certaines dysprotéinémies malignes sont caractérisées par une hausse, parfois considérable, des IgM, généralement de type euglobulinique.

Pour établir le rapport entre cette hausse et la positivité de la MR, nous avons réuni 29 sérums de dysprotéinémies malignes diverses, mais c'est à dessein que nous les avons séparés en deux groupes, suivant que la paraprotéine présentait un caractère euglobulinique ou pseudoglobulinique.

a) les 7 sérums de dysprotéinémies à pseudoglobulines présentaient tous une MR négative. Le taux global des gammaglobulines était très élevé, les tests hépatiques pratiquement normaux. L'immuno-électrophorèse pratiquée sur deux de ces sérums a montré une très forte hausse de la $\gamma_1 A$ chez l'un, une très forte hausse de la γG chez l'autre.

b) sur 22 sérums de dysprotéinémies à euglobulines, 16 présentaient une MR positive ; on y trouve un taux global très élevé en gammaglobulines, une très forte hausse des euglobulines à pH_i 6,6 et 7,2. Une certaine discordance est à noter dans les tests hépatiques : dans 15 cas sur 16 la réaction de Mac Lagan a été fortement positive, tandis que le test de Hanger était négatif une fois sur deux ; ceci révèle, du moins dans ces cas, que le déterminisme des deux tests de floculation est différent. Quant à l'immuno-électrophorèse pratiquée sur l'un des sérums, elle a révélé une accentuation de l'arc de la $\gamma_1 M$.

Il était intéressant d'étudier les six autres sérums qui présentaient une MR négative ; sur 5 d'entre eux la réaction de Mac Lagan était négative. Une immuno-électrophorèse pratiquée sur l'un des six sérums a montré une très forte hausse de la fraction gamma-globuline et une diminution de la $\gamma_1 M$.

III. - Etude de la réaction sur des sérums de paludéens

Nous avions à notre disposition 27 sérums de paludéens * et nous les avons soumis aux mêmes analyses que celles faites précédemment.

---

* Nous remercions le docteur A.F.X. Henry, de Constantine, le docteur Munz, de l'hôpital Albert Schweitzer de Lambaréné, et le professeur Lupascu et ses collaborateurs, de Bucarest, d'avoir bien voulu nous fournir des sérums nous permettant de mener à bien cette étude.

1) Un premier groupe concerne 10 sérums de sujets gabonais, vivant en zone d'endémie palustre. Le tableau I résume l'ensemble de nos résultats.

Nos	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Frottis sang	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
IMR	-	+++	-	-	++	++	-	-	-	+
Sér. alb.	36,0	32,2	33,7	30,7	36,8	33,2	32,2	32,7	29,2	28,6
γ glob.	13,6	28,4	17,8	15,3	18,6	23,2	21,8	23,1	16,2	32,0
Euglo pH$_i$ 5,0	forte haus.	taux norm.	taux norm.	forte haus.	taux norm.	nette haus.	lég. haus.	très lég. haus.	taux norm.	taux norm.
Euglo pH$_i$ 6,0	taux norm.	forte haus.	nette haus.	nette haus.	forte haus.	forte haus.	forte haus.	nette haus.	taux norm.	très lég. haus.
Euglo pH$_i$ 6,6	taux norm.	forte haus.	nette haus.	lég. haus.	forte haus.	forte haus.	lég. haus.	nette haus.	taux norm.	très forte haus.
Euglo pH$_i$ 7,2	taux norm.	forte haus.	taux norm.	taux norm.	taux norm.	nette haus.	taux norm.	taux norm.	taux norm.	très lég. haus.
Test de Hanger	++	nég.	++	nég.	nég.	nég.	+	+++	+++	++
Réaction de Mac Lagan	11°	12°	4°	28°	15°	32°	10°	13°	6°	14°
Taux γ_1M immuno-électroph.	très lég. haus.	forte haus.	taux norm.	forte bais.	lég. haus.	lég. haus.	taux norm.	taux norm.	taux norm.	très lég. haus.
Taux γ_1M immuno-diffusion	taux norm. x 1,5	taux norm. x 2	taux norm.	taux norm. x 0,25	taux norm. x 2	taux norm. x 2	taux norm.	taux norm.	taux norm.	taux norm. x 1,5

Tableau I

2) Six sérums, appartenant à des sujets vivant à Constantine ou dans la région, entrent dans un second groupe. Nous n'avons pas de renseignements cliniques ni hématologiques à leur sujet. Les résultats des analyses effectuées sont consignés dans le tableau II.

Nos	1	2	3	4	5	6
Frottis sang	aucun résultat connu					
MR	-	-	-	-	-	+++
Sér. alb.	45,8	45,5	36,8	32,1	37,6	36,2
γ glob.	13,5	15,1	14,5	12,3	17,5	22,8
Euglo. pH_i 5,0	taux norm.	taux norm.	taux norm.	taux norm.	taux norm.	nette hausse
Euglo. pH_i 6,0	taux norm.	taux norm.	taux norm.	taux norm.	taux norm.	légère hausse
Euglo. pH_i 6,6	taux norm.	taux norm.	légère hausse	taux norm.	légère hausse	légère hausse
Euglo. pH_i 7,2	taux norm.	taux norm.	légère hausse	taux norm.	taux norm.	taux norm.
Test de Hanger	++	+++	++	++	++	+++
Réaction de Mac Lagan	8°	8°	10°	9°	4°	21°
Taux γ_1M immuno-électroph.	très légère hausse	taux normal	taux normal	très légère baisse	forte baisse	légère hausse
Taux γ_1M immuno-diffusion	taux normal x 1	taux normal x 1	taux normal x 1	taux normal x 0,5	taux normal x 0,25	taux normal x 2

Tableau II

3) Enfin un dernier groupe est représenté par onze malades hospitalisés en vue d'une impaludation provoquée. La symptomatologie a été le plus souvent relativement fruste, la plupart des malades présentant des accès irrégulièrement rythmés, deux d'entre eux (obs. n° 10 et 20) avec une parasitémie afébrile de durée variable, parfois très prolongée. Les rapports entre MR et troubles protéiques ayant été précédemment très étudiés sur d'autres sérums, nous n'avons retenu que les résultats des analyses suivantes : MR, dosage des γ_1M par l'immuno-diffusion et par la MR quantitative (Trensz et Raab 332), et réaction d'immuno-fluorescence (RIF), qui a été effectuée par le docteur Bona, de Bucarest.

Le tableau III montre un rapport net entre positivité de la MR et taux élevé en γ_1M (que la détermination ait été faite par la technique de l'immuno-diffusion ou par celle de la MR quantitative).

N°s	13	17	11	23	22	3	10	18	19	20	21	Val. norm.
R qualit.	++	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
R quant.	64°	52°	35°	34°	28°	21°	14°	24°	22°	17°	21°	14° à 25°
aux γ_1M r MR ant.	3,4	2,9	2,1	2,1	1,8	1,5	1,2	1,6	1,6	1,3	1,5	1,1 à 1,7 gr/l.
aux γ_1M r immuno-ffusion	taux norm. x 2	taux norm. x 1,5	taux norm. x 1,5	taux norm. x 2	taux norm. x 1	taux norm. x 1	taux norm. x 1	taux norm. x 1	taux norm. x 1	taux norm. x 1	taux norm. x 1	
F	1/500	1/50	1/50	1/5000	1/1000	1/2000	-	1/300	-	1/300	1/300	-

Tableau III

La MR quantitative (qui utilise comme excipient le tampon TRIS) se montre plus sensible (obs. n° 22 et 23) que la MR qualitative ; mais, exigeant un photomètre pour la lecture des résultats, elle est difficilement applicable aux examens en grande série. Le taux en γ_1M donné par la MR correspond de manière satisfaisante à celui déterminé par immuno-électrophorèse. Les anticorps fluorescents sont présents à des taux variables allant de 1/50 à 1/5000 chez neuf malades sur onze. Leur absence dans l'observation n° 10 peut s'expliquer par le fait que l'impaludation a été faite à P. vivax alors que la recherche des anticorps a été faite avec du sérum antimalariae ; dans l'observation n° 19, la recherche s'est faite seulement sept jours après l'inoculation, donc avant l'apparition possible d'anticorps. Il n'y a aucun parallélisme entre RIF et MR, les deux réactions relevant de deux mécanismes différents.

Dans ce groupe de malades tout se passe comme si les souches de Plasmodium inoculées n'avaient pas le pouvoir de provoquer les perturbations biochimiques classiques d'une impaludation à action marquée ; les troubles protéiques, que nous n'avons pas fait figurer dans le tableau, sont mineurs, et la réaction mésenchymateuse à l'impaludation est faible : ainsi s'explique le petit nombre de MR positives.

En conclusion cette étude, portant sur un nombre total de 27 sérums de paludéens, montre, avec 8 MR positives, que la réaction ne présente pas, dans ce cas, de valeur diagnostique. Les troubles protéiques dans deux groupes de malades sont nets, et du même ordre que ceux relevés par de nombreux auteurs. Nous avons établi un parallélisme étroit entre positivité de la MR et augmentation du taux en γ_1M, objectivée par les techniques sensibles et spécifiques de l'immuno-électrophorèse et de l'immuno-diffusion. Cette augmentation du taux en γ_1M témoigne du degré de réaction mésenchymateuse des malades.

CONCLUSION

Nous avons d'abord exposé un historique aussi complet que possible de la sérologie du paludisme. Puis nous avons cherché à apporter une contribution à l'étude de la MR de Henry en lui adaptant, pour en faciliter l'emploi, une semi-microméthode rapide et sûre, et en précisant différents points techniques de la réaction.

A l'aide de cet instrument de travail, nous avons pu la pratiquer sur de grandes séries, et vérifier sa fréquente positivité dans la cirrhose, les dysprotéinémies, le paludisme, suivre son évolution au cours de l'hépatite virale, et établir son taux de positivité en milieu transfusionnel, sur une population présumée saine.

Ses rapports avec plusieurs éléments du bilan protéique ont été examinés par voie statistique : il apparaît que c'est de la positivité de la réaction de Mac Lagan qu'elle se rapproche le plus, les deux réactions étant de type mésenchymateux. Elle présente sur celle-ci l'avantage d'être indépendante de la lipémie et liée à des corps chimiques définis.

La connaissance du déroulement de la réaction, établie depuis peu, explique sa positivité dans les affections les plus diverses, constatée depuis longtemps par de nombreux auteurs. Un taux élevé de la $\gamma_1 M$, qui se lie à la mélanine pour former un complexe floculant, est le dénominateur commun d'affections aussi différentes que la cirrhose, l'hépatite virale, la trypanosomiase ou le paludisme.

La compréhension du mécanisme de la réaction a déplacé le champ de ses applications : spécifique non d'une maladie mais d'un syndrome immunochimique caractérisé par une hausse réactionnelle du taux de la $\gamma_1 M$, cette

réaction est un "détecteur simple et pratique de cette hausse."

Son intérêt pratique peut s'exercer sur trois plans :

1) sur le plan chimique, elle constitue, comme la réaction de Mac Lagan au thymol, un test de réaction mésenchymateuse hépatique

2) dans les Centres de Transfusion, elle se prête à la détermination rapide et en grande série du taux de la γ_1M, et permet de dépister des formes infracliniques de l'hépatite virale ; on peut ainsi éliminer une fraction importante de donneurs dangereux

3) enfin, sur le plan de la recherche, elle révèle des états pathologiques comportant une réaction du système lympho-plasmocytaire à diverses agressions parasitaires, virales, etc..., caractérisée par une hausse de la γ_1M.

Des recherches ultérieures devraient découvrir un réactif constitué par un corps chimique simple, mieux défini que la mélanine choroïdienne, et rechercher davantage de précisions sur le mode de fixation de la mélanine sur les groupements chimiques en cause.

VU
Strasbourg, le 28.2.1968
Le Président de Thèse
signé : J. CALLOT

VU
Strasbourg, le 28.2.1968
Le Doyen de la Faculté de Médecine
signé : J. CLAVERT

BIBLIOGRAPHIE

1 - ABELE D.C., TOBIE J.E., HILL G.S., CONTACOS P.G. & EVANS C.B. - Amer. J. trop. Med. Hyg., 1965, 14, 191
2 - ADIDA P. - Gaz. Hôpitaux, 1929, 102, 1137
3 - ADIDA P. - Gaz. Hôpitaux, 1930, 103, 475
4 - AKASHI & NAKASHIMA - J. Med. Assoc. Formose, 1934, 36, 2533
5 - ALBEAUX-FERNET M., BOLTANSKI E., COLAS-BELCOUR J., DUVAL J., GLEYE M., SANDOR G. & SLIZEWICZ P. - Bull. Acad. nat. Méd., 1956, 140, 542
6 - ALCAY L., CATTOIR E. & MARILL F.G. - L'Algérie médicale, 1932, 63, 153
7 - ALLECHI Y. - Thèse méd., Nantes, 1965
8 - BADENSKY G.A. et BIVOL E. - C.R. Soc. Biol., 1933, 114, 224
9 - BADENSKY G.A., IONESCO P. & TERITEANO E. - Bull. Acad. Méd. Roumanie, 1938, 6, 689
10 - BALLIF-NEGULICI E. & CONSTANTINESCO P. - Arch. roum. Path. experim. Microb., 1963, 22, 997
11 - BANKI G. & BUCCI A. - Commun. Ier Congrès Parasit., Rome, 1964
12 - BARTFIELD H. - Ann. Intern. Med., 1960, 52, 1059
13 - BASERGA A. - Riv. di Malariol., 1935, 14, 130
14 - BASS C.C. & JOHNS F.M. - J. Exper. Med., 1912, 16, 567
15 - BENHAMOU E. & GILLE R. - C.R. Soc. Biol., 1935, 120, 428
16 - BERGOT G., CHARMOT G., DEPOUX R., ORIC J., RAVISSE P., RAYNAUD R. & VARGUES R. - Sem. Hôpitaux, 1958, 34, 1883
17 - BERTRAND-FONTAINE Th., FAUVERT R., SCHNEIDER J. & HARTMANN L. - Bull. et Mém. Soc. Méd. Hôp. Paris, 1949, 25, 1098
18 - BING J. & CHRISTENSEN N.O. - Acta med. scand., 1944, 116, 382
19 - BONALBERTI E. - Boll. Ist. Sierot. Milan , 1931, 10, 711
20 - BOSELLI A. - Atti Soc. Lab. Sc. Med. Biol., 1948, 3, 188
21 - BOUR H., ROMAN M. & SCHAISON G. - La Press. méd., 1962, 70, 2140
22 - BOYD M.F. & PROSKE H.O. - Amer. J. trop. Med. Hyg., 1941, 21, 245
23 - BRAHMACHARI U.N. - Ind. Med. Gaz., 1917, 52, 319
24 - BRANDT R. & HORN L. - Klin. Wschr., 1935, 14, 1538
25 - BRAY R.S. - Trans. roy. Soc. trop. Med. Hyg., 1962, 56, 436
26 - BRAY R.S. - Coll. intern. sur P. berghei, Inst. Méd. trop., Anvers, 1964
27 - BROCKE M.M., MELVIN M. & HEALY G.R. - Commun. 6e Congrès Méd. trop. et Paludisme, Lisbonne, 1958
28 - BRUCE-CHWATT L.J. - C.R. Soc. Biol., 1934, 116, 707
29 - BRUCE-CHWATT L.J. - Bull. Soc. Path. exot., 1934, 27, 432
30 - BRUCE-CHWATT L.J. - W. Afr. Med. J. - 1952, 12, 141
31 - BUFFE D. - Thèse doct. ès Sciences - Declume éd., Lons-le-Saulnier, 1967
32 - CARNOT P. - C.R. Soc. Biol., 1917, 30, 685
33 - CARTANA P. - Medic. des los Paises Cal., 1931, 2, 1
34 - CARTER A.B. & MAC LAGAN N.F. - Brit. Med. J., 1946, 2, 80
35 - CELLI A. - Atti della Soc. per gli Studi della Malaria, 1899 et 1901

36 - CERNIGLIA A. - Giorn. Batter., 1940, 24, 399
37 - CHABRELIE L. - Thèse méd., Lyon, 1928
38 - CHARMOT G. - Méd. tropic., 1959, 19, 646
39 - CHARMOT G., DEMARCHI J., ORIO J., REYNAUD R. & VARGUES R. - La Presse Méd., 1959, 67, 11
40 - CHARMOT G. - Marseille médical, 1959, 96, 125
41 - CHARMOT G. & REYNAUD R. - Rev. Méd. Tours, 1960, 1, 607
42 - CHARMOT G., VARGUES R. & FOUCHET M. - La Presse Méd., 1961, 69, 1516
43 - CHARMOT G. & VARGUES R. - Ann. Soc. belge Méd. trop., 1963, 43, 487
44 - CHARMOT G. & VARGUES R. - Sem. Hôpitaux, 1963, 30, 1421
45 - CHARMOT G. - Bull. Soc. Path. exot., 1966, 59, 667
46 - CHORINE V. - Riv. di Malariol., 1932, 11, 273
47 - CHORINE V. - Bull. Soc. Path. exot., 1933, 26, 269
48 - CHORINE V. & RODIEUX M. - Bull. Soc. Path. exot., 1933, 26, 1249
49 - CHORINE V. & GILLIER R. - C.R. Acad. Sciences, 1933, 197, 950
50 - CHORINE V. & GILLIER R. - C.R. Soc. Biol., 1933, 113, 1419
51 - CHORINE V. & PRUDHOMME R. - C.R. Soc. Biol., 1934, 115, 290
52 - CHORINE V., PRUDHOMME R. & KOECHLIN D. - C.R. Soc. Biol., 1934, 116 1255
53 - CHORINE V. & KOECHLIN D. - Bull. Soc. Path. exot., 1935, 28, 373
54 - CHORINE V. - Les réactions sérologiques dues aux euglobulines, Maretheux et Pactat éd., Paris, 1936
55 - CHORINE V. - Bull. Soc. Path. exot., 1938, 31, 838
56 - CIUCA M., BALLIF-NEGULICI E., CONSTANTINESCO P., CRISTESCO A. & SANDESCO I. - Arch. roum. Path. experim. Microb., 1962, 21, 485
57 - CIUCA M., RADACOVICI E., CIPLEA A., ISFAN T. & IANCO L. - Arch. roum. Path. experim. Microb., 1964, 23, 5
58 - CIUCA M., BONA C., CIPLEA A., LANCO L., BALLIF-NEGULICI E. & CONSTANTINESCO P. - Arch. roum. Path. experim. Microb., 1964, 23, 749
59 - CIUCA M., LUPASCU G.H., BALLIF-NEGULICI E. & CONSTANTINESCO P. - Arch. roum. Path. experim. Microb., 1964, 23, 763
60 - CIUCA M., CIPLEA A., BONA C. & POZSGI N. - Arch. roum. Path. experim. Microb., 1965, 28, 668
61 - CODJA J. - Thèse méd., Paris, 1964
62 - COGGESHALL L.T. & EATON M.D. - J. Exper. Med., 1938, 67, 871
63 - COHEN S., MAC GREGOR I.A. & CARRINGTON S. - Nature, 1961, 192, 733
64 - COHEN S. & MAC GREGOR I.A., in GARNHAM P.C.C. "Immunity to Protozoa", Blackwell ed., Oxford, 1963
65 - COLLINS W.E. & JEFFERY G.M. - Bull. Wld Hlth Org./Mal., 1963, 417, 53
66 - COLLINS W.E., JEFFERY G.M. & SKINNER J.C. - Amer. J. trop. Med. Hyg., 1964, 13, 1
67 - COLLINS W.E., JEFFERY G.M. & SKINNER J.C. - Amer. J. trop. Med. Hyg., 1964, 13, 256
68 - COLLINS W.E., JEFFERY G.M. & SKINNER J.C. - Amer. J. trop. Med. Hyg., 1964, 13, 786

69 - COLLINS W.E., JEFFERY G.M., GUINN E. & SKINNER J.C. - Amer. J. trop. Med. Hyg., 1966, 15, 11
70 - COLLOMB H., BERT J., MATTERN P. & HOCQUET P. - Bull. Soc. Path. exot., 1963, 56, 971
71 - CORRADETTI A. - Riv. di Malariol., 1932, 11, 283
72 - CORRADETTI A., TOSCHI G. & VEROLINI F. - Riv. di Malariol., 1954, 15, 141
73 - CORRADETTI A. & RIGOLI E. - Parassitologia, 1963, 5, 53
74 - CORRADETTI A., VEROLINI F., SEBASTIANI A., PROIETTI A.M. & AMATI L. - Bull. Org. Mond. Santé, 1964, 34, 747
75 - COSTADONI A. - Giorn. Batter., 1935, 15, 1924
76 - COUDERT J., GARIN J.P., AMBROISE-THOMAS P., SALIOU P. & LU HUYNH THANN - Bull. Soc. Path. exot., 1965, 58, 188
77 - COUDERT J., GARIN J.P., AMBROISE-THOMAS P., SALIOU P. & MINJAT M. Bull. Soc. Path. exot., 1965, 58, 630
78 - COUDERT J., GARIN J.P., AMBROISE-THOMAS P., MINJAT M. & RIGAUD J. - Bull. Soc. Path. exot., 1966, 59, 558
79 - CROPPER J. - The Lancet, 1908, 2, 16
80 - CURTAIN C.C. - Nature, 1965, 203, 1366
81 - DARBON A., SONIER R. & RAYMOND M. - Ann. Biol. clin., 1950, 8, 466
82 - DAVIS B.D. - J. Immunol., 1948, 58, 269
83 - DE BLASI D. - Ann. d'Igiene sperim., 1907
84 - DEBRAY J. - La Presse méd., 1967, 75, 584
85 - DECOURT P. - Bull. Soc. Path. exot., 1949, 42, 259
86 - DEEGAN T., GILLES H.M. & MAC GREGOR I.A. - Ann. trop. Med. Parasit., 1956, 50, 451
87 - DE GRAAF W. - Thèse méd., Amsterdam, 1937
88 - DESOWITZ R.S. & STEIN B. - Trans. roy. Soc. trop. Med. Hyg., 1962, 56, 257
89 - DEU J., FOUCHET M., RIGAUD J.L. & VARGUES R. - Bull. Soc. Path. exot., 1961, 54, 1091
90 - DHONT C.M. - Nederl. Tijdschr. voor Geneesk., 1934, 78, 2188
91 - DI ALESSANDRO G. & SICARI S. - Riv. di Malariol., 1941, 20, 1
92 - DIGGS C.L. - J. Parasit., 1963, 50, 17
93 - DIGGS C.L. - Amer. J. trop. Med. Hyg., 1964, 13, 214
94 - DIXON F.J. - J. Allergy, 1954, 25, 487
95 - DOLE V.P. & EMERSON K. - J. clin. Invest., 1945, 24, 644
96 - DOWNEY H. - Folia haematol., 1911, 11, 275
97 - DRIGUEZ G. - Thèse méd., Alger, 1933
98 - DU BOIS A.M. - C.R. Soc. Biol., 1931, 108, 637
99 - DULANEY A.D. & STRATMAN-THOMAS W.K. - Amer. J. trop. Med. Hyg., 1940, 20, 717
100 - DULANEY A.D. & HOUSE V. - Proc. Soc. exp. Biol. and Med., 1941, 48, 620
101 - DULANEY A.D., STRATMAN-THOMAS W.K. & WARR O.S. - J. Inf. Dis., 1942, 70, 221

102 - DULANEY A.D. & MORRISON D.B. - Amer. J. trop. Med. Hyg., 1944, 24 323
103 - DULANEY A.D. & WATSON R.B. - Amer. J. trop. Med. Hyg., 1945, 25, 473
104 - EATON M.B. - J. Exper. Med., 1938, 67, 857
105 - EATON M.B. & COGGESHALL L.T. - J. Exper. Med., 1939, 69, 379
106 - EDOZIEN J.C. - J. clin. Path., 1957, 10, 276
107 - EDOZIEN J.C., BOYO A.E. & MORLEY D.C. - J. clin. Path., 1960, 13, 118
108 - EDOZIEN J.C., GILLES H.M. & UDEOZO I.O.K. - The Lancet,1962, 2, 951
109 - EHRICH W. - Klin. Wsch., 1955, 33, 315
110 - EYSSERIC G. - Thèse méd., Marseille, 1954
111 - EYSSERIC G., BENAZET F. & SCHIER R. - Bull. Soc. Path. exot., 1957, 50, 462
112 - FABIANI G., VARGUES R. & FULCHIRON G. - C.R. Soc. Biol., 1953, 147, 430
113 - FABIANI G. & ORFILA J. - C.R. Acad. Sciences, 1959, 249, 803
114 - FABIANI G. - Bull. Soc. Path. exot., 1966, 59, 605
115 - FABREGOULE M. - Thèse méd., Alger, 1936
116 - FAGRAEUS A. - J. Immunol., 1948, 51, 1
117 - FARJOT M. - Bull. Soc. Path. exot., 1933, 26, 428
118 - FELTON L.D. - J. Inf. Dis., 1925, 37, 199
119 - FELTON L.D. - Bull. John Hopkins Hosp., 1926, 38, 33
120 - FIESSINGER N., OLIVIER H.R. & HERBAIN M. - Les diagnostics biologiques et fonctionnels, p. 202 - Maloine éd., Paris, 1949
121 - FRUHLING L., PORTE A. & KEMPF J. - C.R. Soc. Biol., 1960, 154, 1066
122 - FUHRMANN G. & PELTZER F. - Zschr. Tropenmed. Parasit., 1959, 10, 375
123 - GABALDON A., GARNHAM P.C., MAC DONALD G. & PAMPANA E. - Monographies Org. Mond. Santé, 1963, 49, 105
124 - GARIN J.P., AMBROISE-THOMAS P. & SALIOU P. - La Presse méd., 1965, 73, 1847
125 - GARNHAM P.C.C. - Trans. roy. Soc. trop. Med. Hyg., 1951, 45, 45
126 - GASBARRINI A. - Sulla diagnosi di malaria latente,Morgagni ed., 1914
127 - GATE J. & PAPACOSTAS E. - C.R. Soc. Biol., 1920, 83, 1432
128 - GAVOSTO F. & FICK A. - Ann. Inst. Pasteur, 1954, 86, 320
129 - GEBBIE D.A., HAMILTON P.J., HUTT M.S., MARSDEN P.D., VOLLER A. & WILKES N.E. - The Lancet, 1964, 392
130 - GERBINIS P. - Bull. Soc. Path. exot., 1934, 27, 19
131 - GHOSH B.N. & SINTON J.A. - Rec. Malar. Surv. India, 1935, 5, 173
132 - GILLE R. - C.R. Soc. Biol., 1933, 112, 334
133 - GILLES H.M. & MAC GREGOR I.A. - Ann. trop. Med. Parasit., 1959, 53, 492
134 - GOODNER K. - Science, 1941, 94, 241
135 - GRABAR P. & BURTIN P. - L'analyse immunoélectrophorétique, Masson éd., Paris, 1960
136 - GREIG E.D.W., VAN ROOYEN C.E. & HENDRY E.B. - Trans. roy. Soc. trop. Med. Hyg., 1934, 28, 175

137 - GREIG E.D.W. - Trans. roy. Soc. trop. Med. Hyg., 1934, 37, 284
138 - HAMASHIMA Y., HAYASHI K., TAKAHASHI S., KYOGOKU M. & TIKASAWA T. - Acta Scholae med. Univ. imp. Kioto, 1955, 32, 123
139 - HARRIS A.D. & REIDEL L.M. - Amer. J. trop. Med. Hyg., 1948, 28, 787
140 - HARTMANN L. - Thèse méd., Paris, 1948
141 - HARTMANN L., BOIVIN P. & FAUVERT R. - Exposés annuels de biochimie médicale, Masson éd., Paris, 1957
142 - HARTMANN L., FILITTI-WURMSER S., LELIEVRE-ARDAILLOU N. & BOIVIN P. - Le Sang, 1960, 31, 491
143 - HARTMANN L. & SCHNEIDER J. - Ann. Soc. belge Méd. trop., 1963, 4, 503
144 - HARTMANN L., VIALLET A. & FAUVERT R. - Clin. Chim. Acta, 1963, 8, 872
145 - HEID E. & BASSET A. - Gaz. méd. de France, 1967, 74, 4261
146 - HENRY A.F.X. - Rapport présenté au Congrès de Constantine (1927) de l'Association française pour l'Avancement des Sciences
147 - HENRY A.F.X. - C.R. Soc. Biol., 1928, 49, 819
148 - HENRY A.F.X. - C.R. Soc. Biol., 1929, 101, 259
149 - HENRY A.F.X. - C.R. 2e Congr. Palud., Alger, 1930, 1, 768
150 - HENRY A.F.X. - Bull. Soc. Path. exot., 1933, 26, 914
151 - HENRY A.F.X. - C.R. Soc. Biol., 1934, 116, 1237
152 - HENRY A.F.X. - Bull. Soc. Path. exot., 1936, 29, 873
153 - HENRY A.F.X. - Arch. Inst. Prophylactique, 1938, 10, 290
154 - HENRY A.F.X. - Revue Hyg. et Méd. préventive, 1939, 61, 673
155 - HENRY A.F.X. - C.R. Soc. Biol., 1947, 141, 991
156 - HENRY A.F.X. - Bull. Soc. Path. exot., 1949, 42, 267
157 - HENRY A.F.X. - Ann. Biol. clin., 1950, 1, 104
158 - HENRY A.F.X. - Revue du Palud. et de Méd. trop., 1953, 103, 1
159 - HENRY A.F.X. - Constantine médical, 1953, 4, 1
160 - HENRY A.F.X. - Constantine médical, 1954, 5, 1
161 - HENRY A.F.X. - Gaz. Hôpitaux, 1959, 21, 767
162 - HENRY A.F.X. - Gaz. Hôpitaux, 1962, 21, 967
163 - HOLMES E.G. - Brit. med. J., 1945, 2, 561
164 - HOLMES E.G., STANIER M.W., SEMAMBO Y.B. & JONES E.F. - Trans. roy. Soc. trop.Med. Hyg., 1951, 45, 371
165 - HOLUB M. - Congr. europ. Soc. haematol., Vienne, 1962, 1, 186
166 - HORMANN H. - Bull. Inst. Pasteur, 1949, 47, 802
167 - HOROWITZ-WLASSOWA L. - Zsch. f. Immunit. u. exp. Therap., 1924, 40, 268
168 - INGRAM R.L., OTKEN L.B. & JUMPER J.R. - Proc. Soc. exp. Biol. and Med., 1961, 106, 52
169 - INGRAM R.L. & CARVER R.K. - Science, 1963, 139, 405
170 - KAGAN I.G. - Exper. Parasit., 1955, 4, 361
171 - KAPPUS A. - Arch. f. Schiffs-u. Tropenhyg., 1932, 36, 576
172 - KARIKS J. & HIPSLEY E.H. - Med. J. Aust., 1961, 1, 853

173 - KAROUT T. & MOLDAWSKAYA-KRITCHEWSKAYA V. - C.R. Soc. Biol., 1933, 113, 1095
174 - KELSCH & KIENER - Traité des maladies des pays chauds, Baillère éd., Paris, 1889
175 - KINGSBURY A.M. - Trans. roy. Soc. trop. Med. Hyg., 1927, 20, 359
176 - KLAUSSNER E. - Wien. Klin. Wschr., 1908, 21, 214
177 - KLIGLER I.J. & YOELI M. - Amer. J. Trop. Med. Hyg., 1941, 21, 531
178 - KNISELY M.H., STRATMAN-THOMAS W.K. & ELIOT T.S. - J. Am. Med. Ass., 1941, 116, 2430
179 - KOCH F. & WOHWINKEL K.H. - Deutsch. med. Wschr., 1933, 48, 1792
180 - KOPP I. & SOLOMON H.C. - Amer. J. med. Sci., 1941, 202, 861
181 - KOPP I. & SOLOMON H.C. - Amer. J. med. Sci., 1943, 205, 90
182 - KREIER J.P. & RISTIC M. - Amer. J. trop. Med. Hyg., 1964, 13, 6
183 - KRETSCHMAR W. & JERUSALEM C. - Zschr. Tropenmed. Parasit., 1963, 14, 279
184 - KRITCHEWSKY I.L. & DEMIDOVA L. - Zschr. f. Immunit. u. exp. Therap., 1933, 80, 135
185 - KRITCHEWSKY I.L. & RUBINSTEIN P.L. - Bull. Inst. Pasteur, 1937, 35, 483
186 - KUVIN S.F., TOBIE J.E., EVANS T.B., COATNEY G.R. & CONTACOS P.G., Amer. J. trop. Med. Hyg., 1962, 11, 429
187 - KUVIN S.F. & VOLLER A. - Brit. Med. J., 1963, 2, 477
188 - LACOUR P.R. - Recherches sur la malaria-floculation de Henry, Doin éd., Paris, 1934
189 - LAFUMA J. - Thèse méd., Lyon, 1935
190 - LANDON A. - Thèse méd., Lyon, 1949
191 - LAVERGNE J. & MONIER M. - Bull. Soc. Path. exot., 1931, 24, 539
192 - LEBLANC A. - La Cellule (Louvain), 1901, 18, 335
193 - LEBON J. & FABREGOULE M. - Sem. Hôpitaux, 1949, 78, 229
194 - LE BOURDELLES B. & LIEGEOIS R. - Bull. et Mém. Soc. Méd. Hôp. Paris, 1929, 53, 1198
195 - LE BOURDELLES B., LIEGEOIS R. & CHABRELIE L. - Arch. Méd. et Pharm. milit., 1930, 92, 179
196 - LE BOURDELLES B. & VELLUZ L. - C.R. Soc. Biol., 1931, 108, 402
197 - LE BOURDELLES B. - Revue de méd. franç., 1933, 225
198 - LE BOURDELLES B. & FRIBOURG-BLANC A. - Bull. et Mém. Soc. Méd. Hôp. Paris, 1933, 59, 1013
199 - LE BOURDELLES B. & MAUVAIS R. - C.R. Soc. Biol., 1938, 127, 767
200 - LIPPELT J. - Arch. f. Schiffs-u. Tropenhyg., 1938, 42, 522
201 - LIPPINCOTT S.W., GORDON H.M., HESSELBROCK W.B. & MARBLE A. - J. clin. Invest., 1945, 24, 362
202 - LIVIERATO S.G. & SALATA C.C. - Bull. Inst. Pasteur, 1936, 34, 668
203 - LLOYD R.B. & PAUL S.N. - Indian J. med. Res., 1929, 17, 583
204 - LO MONACO D. & PANICHI L. - Sul fenomeno dell'agglutinazione nel sangue dei malarici, "Rendic. Accad. dei Lincei", 1900
205 - LUND M.N. & JACOBS L. - J. Immunol., 1959, 82, 146

206 - MACARIO C. & BENTZ M. - Bull. Soc. Path. exot., 1963, 56, 422
207 - MAC FARLANE H. & VOLLER A. - J. Trop. Med. Hyg., 1966, 69, 104
208 - MAC GREGOR I.A., WALTERS J.H., DAVIES A.N. & PEARSON F.A. - Brit. Med. J., 1956, 2, 686
209 - MAC GREGOR I.A. & GILLES H.M. - Ann. Trop. Med. Parasit., 1960, 54, 275
210 - MAC GREGOR I.A., CARRINGTON S.P. & COHEN S. - Trans. roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 1963, 57, 170
211 - MAC GREGOR I.A. - Trans. roy. Soc. trop. Med. Hyg., 1964, 58, 80
212 - MAC GREGOR I.A., WILLIAMS K., VOLLER A. & BILLEWICZ W.Z. - Trans. roy. Soc. trop. Med. Hyg., 1965, 59, 395
213 - MAC KELVEY E.M. & FAHEY J.L. - J. clin. Invest., 1965, 44, 1778
214 - MAC LAGAN N.F. - Brit. Med. J., 1948, 2, 892
215 - MAKARI J.G. - Brit. Med. J., 1946, 1, 272
216 - MALAMOS B. - Riv. di Malariol., 1937, 16, 91
217 - MANNONI J. - Thèse méd., Paris, 1936
218 - MANSON-BAHR P. - Riv. di Malariol., 1927, 6, 780
219 - MARCHOUX E. & CHORINE V. - La Presse méd., 1935, 101, 2049
220 - MATTERN P., MASSEYEFF R., MICHEL R. & PERETTI P. - Ann. Inst. Pasteur, 1961, 101, 382
221 - MATTERN P. - Ann. Inst. Pasteur, 1962, 102,64
222 - MATTERN P., DURET J. & PAUTRIZEL R. - C.R. Acad. Sciences, 1963, 256, 820
223 - MATTERN P. - Ann. Inst. Pasteur, 1964, 107, 415
224 - MATTERN P., BENTZ M. & MAC GREGOR I.A. - Ann. Inst. Pasteur, 1967, 112, 105
225 - MATVEEV I. - Bull. Inst. Pasteur, 1937, 35, 490
226 - MAYER M.M. & HEIDELBERGER M. - J. Immunol., 1936, 54, 89
227 - MEERSSEMAN F. & LACOUR P. - C.R. Soc. Biol., 1933, 1, 908
228 - MEERSSEMAN F. & LACOUR P. - La Presse méd., 1934, 42, 995
229 - MEERSSEMAN F. & LAFUMA J. - C.R. Soc. Biol., 1936, 121, 52
230 - MELLORS R.C. & KORNGOLD L. - J. Exper. Med., 1963, 118, 387
231 - MILAM D.F. - J. Lab. clin. Med., 1946, 31, 285
232 - MIRCOLI S. - La malaria e etiologicamente guaribile o solo clinicamente latentizzabile ? , Tommasi ed., 1908
233 - MOHUN A.F. - Ann. trop. Med. Parasit., 1946, 40, 29
234 - MOLDAWSKAYA-KRITCHEWSKAYA V. - Arch. f. Schiffs-u. Tropenhyg., 1933, 37, 252
235 - MORETTI G. & MANDOUL R. - Encycl. Méd. Chir., Mal. infect., 8089, Masson éd., Paris, 1966
236 - MULLIGAN H.W., RUSSEL P.F. & MOHAN B.N. - J. Mal. Inst. India, 1940, 3, 513
237 - NAIDU V.R., RAO A.V. & RAJAGOPAL M.O. - J. Ind. med. Ass., 1942, 11, 340
238 - NANNI C. - Giorn. di Medicina milit., 1931, 80, 381

239 - NICOL T., BILBEY D.L. & WARE C.C. - Nature, 1958, 182, 534
240 - NICOLI J., BERGOT J. & DEMARCHI J. - Ann. Inst. Pasteur, 1961, 101, 596
241 - NICOLI J., ACKER P. & DEMARCHI J. - Ann. Inst. Pasteur, 1964, 107, 232
242 - NOBECOURT P. & LIEGE R. - Revue col. Méd. et Chir., 1932, 33, 47
243 - ORTEGA L.J. & MELLORS R.C. - J. Exper. Med., 1957, 106, 627
244 - PAUTRIZEL R. & NGUYEN VINH-NIEN - Bull. Soc. Path. exot., 1953, 46, 671
245 - PEWNY W. - Wien. Klin. Wschr., 1918, 31, 205
246 - PORTER K.A. & COOPER E.H. - J. Exper. Med., 1962, 115, 997
247 - POZZI A. - Il Policlinico, 1930, 8, 361
248 - PRUDHOMME R.C. - C.R. Soc. Biol., 1935, 119, 1115
249 - PRUDHOMME R.C. - C.R. Soc. Biol., 1935, 120, 944
250 - RAFFAELE G. - Sc. med. ital., 1951, 2, 631
251 - RAWNESLEY H.M., YONAN W.L. & REINHOLD T.G., - Science, 1956, 123, 991
252 - RAY J.C., MUKERJEE S. & ROY A.N. - Ann. Biochem. and Exp. Med., 1941, 1, 207
253 - RAYNAL J. - Bull. Soc. Path. exot., 1936, 29, 75
254 - REIN C.R., BUKANTZ S.C., KENT J.F., COOPER W.C., RUHE D.S. & COATNEY G.R. - Amer. J. trop. Med. Hyg., 1949, 49, 174
255 - REY M., MAC GREGOR I.A. & MATTERN P. - in Gaz. méd. de France, 1967, 74, 1308
256 - ROCCHI F. - Riv. di Malariol., 1931, 10, 161
257 - ROCCHI F. - Riv. di Malariol., 1939, 18, 225
258 - ROCHE S. - Thèse méd., Paris, 1963
259 - ROUBIER J.P. - Thèse méd., Paris, 1958
260 - ROUSSY G., LEROUX R. & OBERLING C. - Précis d'Anatomo-Pathologie, Masson éd., Paris, 1950
261 - ROW R. - Trans. roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 1931, 24, 623
262 - RUBINSTEIN M. - Traité pratique de sérologie et de sérodiagnostic, Maloine éd., Paris, 1932
263 - RUSSEL P.F., MULLIGAN H.W. & MOHAN B.N. - J. Mal. Inst. India, 1941, 4, 15
264 - SALIOU P. - Thèse méd., Lyon, 1964
265 - SANDOR G. & SKROBISZ C. - Ann. Inst. Pasteur, 1948, 75, 532
266 - SANDOR G. & SKROBISZ C. - Bull. Soc. Chimie biol., 1948, 30, 410
267 - SANDOR G. & SKROBISZ C. - Bull. Soc. Chimie biol., 1949, 31, 86
268 - SANDOR G. & WEILL-FAGE J.C. - Ann. Inst. Pasteur, 1950, 79, 130
269 - SANDOR G., CHARMOT G. & VARGUES R. - La Presse méd., 1964, 72, 1353
270 - SANDOR G. & KAWERAU E. - Serum proteins in health and disease, Chapman and Hall ed., London, 1966
271 - SCHERER J. - Liebig's Ann., 1841, 40, 1
272 - SCHILLING G. - Zschr. f. Immunit. u. exp. Therap., 1943, 104, 212
273 - SCHNEIDER A.L. & SHALLENBERGER P.L. - Amer. J. med. Sc., 1947, 214, 80
274 - SCHNEIDER J. & HARTMANN L. - Bull. Soc. Path. exot., 1949, 42, 259

275 - SCHNEIDER J. - Bull. médical, 1950, 4, 75
276 - SCHNEIDER J. & HARTMANN L. - 5e Congr. intern. Méd. trop. et du Palud., Istamboul, 1953
277 - SCHNEIDER J. & HARTMANN L. - Bull. Soc. Path. exot., 1955, 48, 552
278 - SCHOFIELD F.D. - Trans. roy. Soc. trop. Med. Hyg., 1957, 51, 332
279 - SCHUR P. - J. trop. Med. Hyg., 1964, 67, 260
280 - SERGENT Ed. - Arch. Inst. Pasteur Algérie, 1948, 26, 91
281 - SHERMAN I.W. & HULL R.W. - J. Protozoology, 1960, 7, 171
282 - SHERMAN I.W. - J. Protozoology, 1964, 11, 409
283 - SHORTT H.E. & GARNHAM P.C.C. - Brit. Med. J., 1948, 1, 1225
284 - SHORTT H.E., FAIRLEY N.M., COVELL G., SHUTE P.G. & GARNHAM P.C.C., Trans. roy. soc. trop. Med. Hyg., 1951, 44, 405
285 - SIA R.H.P. - China med. J., 1924, 38, 35
286 - SICAULT G. - Bull. Soc. Path. exot., 1937, 30, 565
287 - SICAULT G. & MESSERLIN A. - Bull. soc. Path. exot., 1938, 31, 834
288 - SICAULT G. & MESSERLIN A. - Bull. soc. Path. exot., 1940, 33, 272
289 - SINGH J. & SINGH H. - J. Mal. Inst. India, 1940, 3, 53
290 - SINGER I. - J. Inf. Dis., 1954, 94, 241
291 - SOLOMON A., FAHEY J.L. & MALMGREN R.A. - Blood, 1963, 21, 403
292 - SOMOGYI J.C. - Riv. di Parassitol., 1939, 3, 157
293 - SPIRA D. & ZUCKERMAN A. - Science, 1962, 137, 536
294 - STEIN B. & DESOWITZ R.S. - Bull. Wld Hlth Org., 1964, 30, 45
295 - SUCHET A. - Le Laboratoire médical, 1965, 18, 257
296 - SUCHET A. - Le Laboratoire médical, 1966, 19, 20, 43 et 87
297 - SUTLIFF W.D., DULANEY A.D. & DAVIS W.M. - J. Nat. Malaria Soc., 1950, 9, 75
298 - TALIAFERRO W.H., TALIAFERRO L.G. & FISCHER B.A. - J. Prev. Med., 1927, 1, 343
299 - TALIAFERRO W.H. & TALIAFERRO L.G. - J. Prev. Med., 1928, 2, 147
300 - TALIAFERRO W.H. - The immunology of parasitic infections, The Century C°, New-York, 1929
301 - TALIAFERRO W.H. & CANNON P.R. - J. Inf. Dis., 1936, 59, 72
302 - TALIAFERRO W.H. & MULLIGAN H.W. - Indian Med. Res. Mem., 1937, 29, 1
303 - TALIAFERRO W.H. - Ann. Rev. Microb., 1949, 1, 159
304 - TALIAFERRO W.H. - Immunity to the malaria infection, in BOYD M.F. Malariology, Saunders ed., Philadelphia, 1949
305 - TALIAFERRO W.H. & TALIAFERRO L.G. - J. Inf. Dis., 1955, 97, 99
306 - TALIAFERRO W.H. & HUMPHREY J.M. - Advancesin Immunology, Academic Press, New-York, 1961
307 - TELLA A. & MAEGRAITH B. - Ann. trop. Med. Parasit., 1965, 59, 153
308 - THILLARD P. - Thèse méd., Lyon, 1936
309 - THOMSON J.G. - Trans. roy. Soc. trop. Med. Hyg., 1919, 12, 39
310 - THORELL B. - Acta med. scand., 1944, 117, 334
311 - TOBIE J.E & COATNEY G.R. - Exper. Parasit., 1961, 11, 128

312 - TOBIE J.E., KUVIN S.F., CONTACOS P.G. & COATNEY G.R. - Amer. J. trop. Med. Hyg., 1962, 11, 589
313 - TOBIE J.E. - Bull. Wld Hlth Org./Mal., 1963, 417, 59
314 - TOBIE J.E. - Progress in Protozoology, p. 164 - Excerpta Medica, Amsterdam, 1965
315 - TORREY J.C. & KAHN M.C. - J. Immunol., 1949, 62, 41
316 - TRENSZ F. - Arch. Inst. Pasteur Algérie, 1932, 10, 443
317 - TRENSZ F. - Bull. Soc. Path. exot., 1932, 25, 221
318 - TRENSZ F. - Bull. Soc. Path. exot., 1932, 25, 231
319 - TRENSZ F. - Bull. Soc. Path. exot., 1932, 25, 310
320 - TRENSZ F. - Bull. Soc. Path. exot., 1932, 25, 314
321 - TRENSZ F. & JARDON M. - Bull. Soc. Path. exot., 1933, 26, 442
322 - TRENSZ F. - C.R. Soc. Biol., 1934, 116, 1082
323 - TRENSZ F. - C.R. Acad. Sciences, Paris, 1934, 198, 1458
324 - TRENSZ F. - Bull. Soc. Path. exot., 1935, 28, 174
325 - TRENSZ F. - Bull. Soc. Path. exot., 1935, 28, 558
326 - TRENSZ F. - Arch. Inst. Pasteur Algérie, 1935, 13, 11
327 - TRENSZ F. - Arch. Inst. Pasteur Algérie, 1935, 13, 513
328 - TRENSZ F. - Arch. Inst. Pasteur Algérie, 1936, 14, 353
329 - TRENSZ F. & RAAB J. - Ann. Biol. clin., 1965, 23, 301
330 - TRENSZ F. & RAAB J. - Ann. Biol. clin., 1965, 23, 589
331 - TRENSZ F., LE BERRE G., MARBACH G. & RAAB J. - Ann. Biol. clin., 1966, 24, 1081
332 - TRENSZ F. & RAAB J. - Ann. Biol. clin., 1966, 24, 1097
333 - TRENSZ F. & LE BERRE G. - à paraître dans Bull. Soc. Path. exot.
334 - TSECHNOWITZER M., MOLDAWSKAYA-KRITCHEWSKAYA V., GARCHOVA S. & FRIEDMANN G. - C.R. Soc. Biol., 1933, 113, 1093
335 - TUPA A. & CIUCA M. - Arch. roum. Path. experim. Microb., 1935, 11, 1
336 - TUPA A. & CIUCA M. - Arch. roum. Path. experim. Microb., 1938, 11, 39
337 - TURNER M.W. & VOLLER A. - J. Trop. Med. Hyg., 1966, 69, 99
338 - VAN FURTH R. - The formation of immunoglobulins by human tissues in vitro, Luctor and Emergo, Leiden, 1964
339 - VAN OYE E., VAN ROS G. & CHARLES P. - Clin. Chim. Acta, 1959, 4, 68
340 - VARGUES R. - Gaz. Hôpitaux, 1955, 127, 961
341 - VARGUES R. & FABIANI G. - C.R. Soc. Biol., 1952, 146, 1298
342 - VAUCEL M. - Médecine tropicale, Flammarion éd., Paris, 1954
343 - VAUCEL M., ROUBAUD E. & GALLIARD M. - Monographies Org. Mond. Santé, 1954, 25, 44
344 - VIALATTE C. & REMONTET E. - Bull. Soc. Path. exot., 1930, 23, 590
345 - VILKKI J. - Acta med. scand., 1945, 164, 1
346 - VILLAIN G. & DUPOUX R. - Arch. Inst. Pasteur Tunis, 1936, 25, 469
347 - VOIGTLANDER W. - Zschr. f. Immunit. u. exper. Therap., 1934, 81, 378
348 - VOLAVSEK W. - Wien. Klin. Wschr., 1937, 50, 1551
349 - VOLLER A. - Bull. Wld Hlth Org., 1962, 27, 283

350 - VOLLER A. - Doctoral Dissertation, University of London, 1963
351 - VOLLER A. - Bull. Wld Hlth Org., 1964, 30, 343
352 - VOLLER A. - Amer. J. trop. Med. Hyg., 1964, 13, 204
353 - VOLLER A. - The melano-flocculation test in malaria - Wld Hlth Org./Mal./ 66.556, 1966
354 - VOLLER A. & BRAY R.S. - Trens. roy. Soc. trop. Med. Hyg., 1962, 56, 436
355 - VOLLER A. & BRAY R.S. - Proc. Soc. exp. Biol., 1962, 110, 907
356 - VOLLER A. & TAFFS L.F. - Trans. roy. Soc. trop. Med. Hyg., 1963, 57, 32
357 - WAGNER von JAUREGG - Die Einwirkung der Malaria auf die progressive Paralyse, Psych. neurol. Wschr., 1918
358 - WARASI W. - Arch. f. Schiffs.-u. Tropenhyg., 1928, 32, 523
359 - WEIL P.E., ASCHKENASY N. & CAPRON R. - Biol. méd. (Paris), nov. 1939
360 - WESTPHAL A. - Zsch. Tropenmed. Parasit., 1950, 2, 134
361 - WHITE R.G. - Brit. J. Exp. Pathol., 1954, 35, 365
362 - WHITE R.G. & DOERNER A.A. - J. Amer. med. Ass., 1954, 155, 637
363 - WISEMAN R. - The Lancet, 1934, 2, 543
364 - WOLFF E.K. - Trans. roy. Soc. trop. Med. Hyg., 1939, 32, 707
365 - WOLLENSAK G. & SEYBOLD G. - Zsch. f. Naturforsch., 1957, 12b, 147
366 - WOODRUFF A.W. - Trans. roy. Soc. trop. Med. Hyg., 1957, 51, 419
367 - ZIEMANN H. - Malaria, Mensis Handbuch Tropen-Krankheiten, Leipzig, 1924
368 - ZIPF H.F. - Zsch. Hyg. Infektkrank., 1948, 128, 255
369 - ZUCKER-FRANKLIN D., FRANKLIN E.C. & COOPER N.S. - Blood, 1962, 20, 56
370 - ZUCKERMAN A. - Amer. J. trop. Med. Hyg., 1964, 13, 204
371 - ZUCKERMAN A. & SPIRA D. - Immunoelectrophoretic comparison on plasmodial antigens, Ier Congr. intern. Parasit., Rome, 1964
372 - ZUCKERMAN A. & SPIRA D. - Bull. Wld Hlth Org./ Mal./ 497, 1965

TABLE DES MATIERES

	Pages
INTRODUCTION	1
BUT DE L'ETUDE	2
HISTORIQUE	
I. - Les diverses réactions sérologiques du paludisme	
1) Réactions de fixation du complément	3
2) Réactions de précipitation	6
3) Pouvoir schizonticide	6
4) Intradermoréaction	7
5) Réactions d'agglutination	7
6) Réactions d'hémagglutination	9
7) Techniques d'immunoélectrophorèse	9
8) Techniques d'immunofluorescence	10
II. - La place de la réaction de Henry parmi les autres réactions sérologiques	
1) Principe, technique et résultats	11
a) technique originale de Henry	12
b) technique de Henry à l'hémozoïne mélanique	13
2) Valeur diagnostique de la réaction dans le paludisme selon divers auteurs	
a) le paludisme provoqué	14
b) le paludisme endémique	15
c) le paludisme statique	17
d) négativation de la réaction	17
e) critères de guérison du paludisme	18
f) le paludisme provoqué chez les animaux	18
3) Spécificité de la réaction de Henry	19
a) trypanosomiase	20
b) leishmaniose	20
c) fièvre récurrente	21
d) typhus exanthématique	21
e) hépatites	
α) hépatite paludéenne	21
β) autres hépatites	23
f) cirrhoses	25
g) syphilis	26
h) autres affections	27
i) conclusion	27

Pages

III. - Evolution des techniques se rapportant à la réaction de Henry

1) Perfectionnement de l'antigène 28
2) Choix d'un excipient 30

IV. - Explication de la réaction

1) Conception immunologique
a) conception de Henry 31
b) critiques de cette conception 33

2) Conception physico-chimique 36
a) le rôle des euglobulines 38
b) le rôle de l'immunoglobuline M 43
α) en pathologie tropicale 43
β) dans les affections des zones tempérées 45
γ) relations entre γ_1M et MR 46

3) Etape cellulaire 47

V. - Résumé de l'historique 57

TRAVAIL PERSONNEL

I. - Mises au point techniques

1) Technique utilisée pour la pratique de la MR 59
2) Matéri el choisi 61
3) Température optimum 62
4) Le problème des sérums inactivés 63
5) Utilisation d'un liquide conservateur 64
6) Comparaison de la MR avec les réactions de Chorine et de Sia 65

II. - Etude de la MR sur des sérums non paludéens

1) Sérums du Centre de Transfusion 66
2) La MR et quelques analyses biologiques courantes 69
3) La MR et le bilan protéique 70
4) La MR et les sérums d'hépatites virales 72
5) La MR et les sérums de cirrhoses 74
6) La MR et les sérums de dysprotéinémies 75

III. - Etude de la MR sur des sérums de paludéens 76

CONCLUSION 81

BIBLIOGRAPHIE 83

TABLE DES MATIERES 94